

**PENGARUH EKSTRAK LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata*)  
TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila*  
SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

Oleh:

**EKA LAILA DINDAYANI**

**NIM. 175080507111001**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2021**

**PENGARUH EKSTRAK LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata*)  
TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila*  
SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh:

**EKA LAILA DINDAYANI**

**NIM. 175080507111001**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN**

**JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2021**



## SKRIPSI

### PENGARUH EKSTRAK LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA IN VITRO

Oleh:

**EKA LAILA DINDAYANI**

**NIM. 175080507111001**

Telah Dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal 9 Juli 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing 1



**(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.)**

**NIP. 19611106 198602 2 001**

Tanggal: 7/13/2021

Dosen Pembimbing 2



**(Rani Yuwanita, S. Pi, MP.)**

**NIP. 2015068606122001**

Tanggal: 13 Juli 2021

Mengetahui:

Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



**(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP.)**

**NIP. 196809192005011001**

Tanggal: 7/14/2021

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Eka Laila Dindayani

NIM : 175080507111001

Judul : Pengaruh Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) terhadap Daya

Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penulisan skripsi ini berdasarkan hasil penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri, baik untuk naskah, tabel, gambar maupun ilustrasi lainnya yang tercantum sebagai bagian dari Skripsi. Jika terdapat karya / pendapat / penelitian dari orang lain, maka saya telah mencantumkan sumber yang jelas dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Brawijaya, Malang.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa adanya paksaan dari pihak manapun.

Malang, 9 Juli 2021

Eka Laila Dindayani

NIM.175080507111001



## IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Pengaruh Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Eka Laila Dindayani

NIM : 175080507111001

Program Studi : Budidaya Perairan

### PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

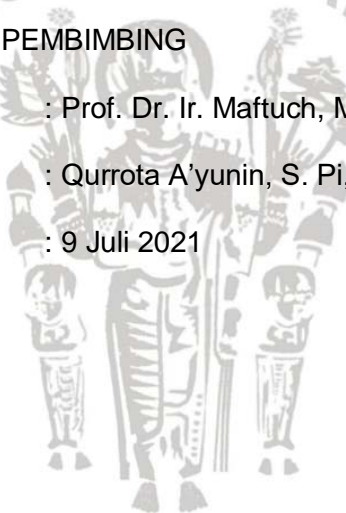
Pembimbing 2 : Rani Yuwanita, S. Pi, MP

### PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji 1 : Prof. Dr. Ir. Maftuch, M. Si

Dosen Penguji 2 : Qurrota A'yunin, S. Pi, MP, M. Sc

Tanggal Ujian : 9 Juli 2021



## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Allah SWT atas karunia dan kesehatan yang diberikan selama ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Penulis juga menyampaikan ucapan terimakasih atas bantuan dan dukungan dari beberapa pihak kepada:

1. Tuhan yang Maha Esa.
2. Kedua orang tua dan adik saya Dwi Noveli yang selalu memberikan doa, cinta dan kasih sayang, semangat yang kuat dan kerja kerasnya yang menjadi motivasi saya dalam menyelesaikan studi ini.
3. Bapak Dr. Ir. M. Firdaus, MP. Selaku ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan.
4. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, M.S. selaku Dosen Pembimbing 1 dan Ibu Rani Yuwanita, S. Pi, MP selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan dan arahan serta Prof. Dr. Ir. Maftuch, M. Si dan Ibu Qurrota A'yunin, S. Pi, MP, M. Sc selaku Dosen Penguji.
5. Septian Putra Kusuma Aji yang selalu memberikan semangat dan dukungan serta menjadi tempat saya mengeluh sampai detik ini.
6. Amalia, Dewi, Vira, dan Qoqom teman yang luar biasa baiknya dan selalu jadi tempat berbagi dan teman ngobrol ternyaman
7. Team Bakteri (Puji, Desy, Dita, Sandi, dan Rendy) yang telah membantu dan memberikan dukungan sehingga dapat menyelesaikan studi ini.
8. Teman teman Budidaya Perairan angkatan 2017 dan semua pihak yang turut membantu, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Malang, 9 Juli 2021

Penulis



## RINGKASAN

**Eka Laila Dindayani.** Pengaruh Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani dan Rani Yuwanita, S. Pi, MP.**

Budidaya perikanan di Indonesia sering dihadapkan dengan berbagai kendala, salah satunya yaitu serangan penyakit. Sebanyak 33,9% penyakit pada ikan disebabkan oleh bakteri, dan salah satunya yaitu *Aeromonas hydrophila* yang memiliki tingkat virulensi tinggi dan dapat menyebabkan adanya penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*). Untuk mengatasi serangan bakteri biasanya dapat digunakan antibakteri. Namun menggunakan antibakteri terus menerus dapat memberikan dampak bagi lingkungan dan organisme sehingga perlu adanya pengobatan alternatif. Salah satu bahan obat alami yang berasal dari tumbuhan yaitu lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) karna mengandung minyak atsiri, flavonoid, fenol, tanin dan lain-lain yang diduga dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui dosis maksimum ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan untuk menentukan dosis MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) yang dapat digunakan untuk uji cakram pada Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini dilakukan di CV Sumber Rejeki Bandaran, Pasuruan, Jawa Timur pada bulan April 2021. Pada penelitian ini menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan pemberian ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) dengan dosis yang berbeda yaitu 100 ppm (A), 105 ppm (B), 110 ppm (C), 115 ppm (D), 120 ppm (E), dan kontrol positif (+) menggunakan antibiotik Chloramphenicol 30ppm serta control negatif (-) tanpa pemberian ekstrak. Penelitian ini menggunakan parameter uji yaitu hasil pengamatan zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram yang sudah ditumbuhi oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan dosis yang berbeda.

Penelitian ini didapatkan data hasil yaitu ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* dengan dosis minimum 100 ppm yang didapatkan dari uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*). Hasil rata-rata zona bening yang didapatkan dari uji cakram pada penelitian ini yaitu perlakuan 100 ppm (8,78 mm), 105 ppm (9,24 mm), 110 ppm (9,63), 115 ppm (9,80 mm), 120 ppm (10, 13 mm). Hasil penelitian menunjukan hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak lengkuas merah terhadap diameter zona hambat yaitu berupa pola linier dengan persamaan  $y = 2,34 + 0,07x$  dan koefisien  $R^2 = 0,94$ . Data di atas menunjukan bahwa hubungan antara pemberian ekstrak lengkuas merah dalam menghambat bakteri *Aeromonas hydrophilla* memiliki respon yang meningkat seiring dengan pertambahan dosis ekstrak. Hasil tertinggi pada penelitian ini yaitu pada dosis 120 ppm dengan rata-rata sebesar 10,13 mm dan hasil terendah yaitu pada dosis 100 ppm sebesar 8,78 mm. Hasil rendemen ekstrak lengkuas merah pada penelitian ini yaitu sebesar 15,56%.



## SUMMARY

**Eka Laila Dindayani.** Pengaruh Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani dan Rani Yuwanita, S. Pi, MP.**

Aquaculture in Indonesia is often faced with various obstacles, one of which is disease. As many as 33.9% of diseases in fish are caused by bacteria, and one of them is *Aeromonas hydrophila* which has a high virulence level and can cause MAS (Motile *Aeromonas* Septicemia) disease. To overcome the bacterial attack can usually be used antibacterial. However, continuous use of antibacterials can have an impact on the environment and organisms, so there is a need for alternative treatments. One of the natural medicinal ingredients derived from plants is red galangal (*Alpinia purpurata*) because it contains essential oils, flavonoids, phenols, tannins and others which are thought to be used to inhibit bacterial growth.

The aim of this study was to determine the maximum dose of red galangal extract (*Alpinia purpurata*) used to inhibit the growth of *Aeromonas hydrophila* bacteria and to determine the MIC (Minimum Inhibition Concentration) dose that can be used for disc testing on *Aeromonas hydrophila* bacteria. This research was conducted at CV Sumber Rejeki Bandaran, Pasuruan, East Java in April 2021. In this study using the RAL method (Completely Randomized Design) by administering red galangal extract (*Alpinia purpurata*) with different doses of 100 ppm (A), 105 ppm (B), 110 ppm (C), 115 ppm (D), 120 ppm (E), and positive control (+) using the antibiotic Chloramphenicol 30ppm and negative control (-) without extract. This study uses test parameters, namely the observation of the clear zone seen around the paper disc that has been overgrown with *Aeromonas hydrophila* bacteria with different doses.

This study obtained data that the red galangal extract (*Alpinia purpurata*) can inhibit the growth of *Aeromonas hydrophila* bacteria with a minimum dose of 100 ppm obtained from the MIC (Minimum Inhibition Concentration) test. The average clear zone results obtained from the disc test in this study were 100 ppm (8.78 mm), 105 ppm (9.24 mm), 110 ppm (9.63), 115 ppm (9.80 mm), 120 ppm (10.13 mm). The results showed the relationship between the addition of red galangal extract treatment dose to the diameter of the inhibition zone in the form of a linear pattern with the equation  $y = 2.34 + 0.07x$  and the coefficient  $R^2 = 0.94$ . The data above shows that the relationship between the administration of red galangal extract in inhibiting *Aeromonas hydrophila* bacteria has an increasing response with increasing the dose of the extract. The highest result in this study was at a dose of 120 ppm with an average of 10.13 mm and the lowest result was at a dose of 100 ppm at 8.78 mm. The yield of red galangal extract in this study was 15.56%.



## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul "Pengaruh Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro". Proposal ini menyajikan beberapa pokok bahasan mengenai proses dan hasil yang meliputi pembuatan bioaktif penghambat bakteri *Aeromonas hydrophila* menggunakan ekstrak lengkuas merah. Parameter utama yang diamati yaitu daya hambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Penulis menyadari akan keterbatasan baik dalam penyusunan proposal skripsi yang terdapat kekurangan dan ketidak sempurnaan. Akan tetapi, kekurangan tersebut diharapkan tidak mengurangi nilai manfaat yang ingin disampaikan penulis kepada pembaca. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun.

Malang, 9 Juli 2021

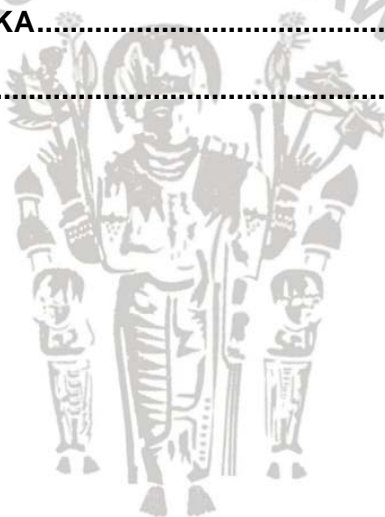
Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	iv
<b>IDENTITAS TIM PENGUJI</b> .....	v
<b>UCAPAN TERIMAKASIH</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vi
<b>SUMMARY</b> .....	viii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Manfaat.....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Bakteri Aeromonas hydrophila.....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	5
2.1.2 Habitat.....	6
2.1.3 Infeksi dan Tanda Penyerangan.....	6
2.2 Lengkuas Merah (Alpinia purpurata).....	7
2.2.1 Klasifikasi dan morfologi.....	7
2.2.2 Bahan Aktif.....	8
2.2.3 Aktivitas Antibakteri.....	9
2.3 Uji Efektivitas Antimikroba secara In Vitro.....	10
2.4 Ekstraksi.....	11
2.4.1 Macam-macam Ekstraksi.....	11
2.4.2 Pelarut.....	12
<b>3. METODE PENELITIAN</b> .....	14
3.1 Tempat, Waktu/ Jadwal Pelaksanaan.....	14
3.2 Metode Penelitian.....	14

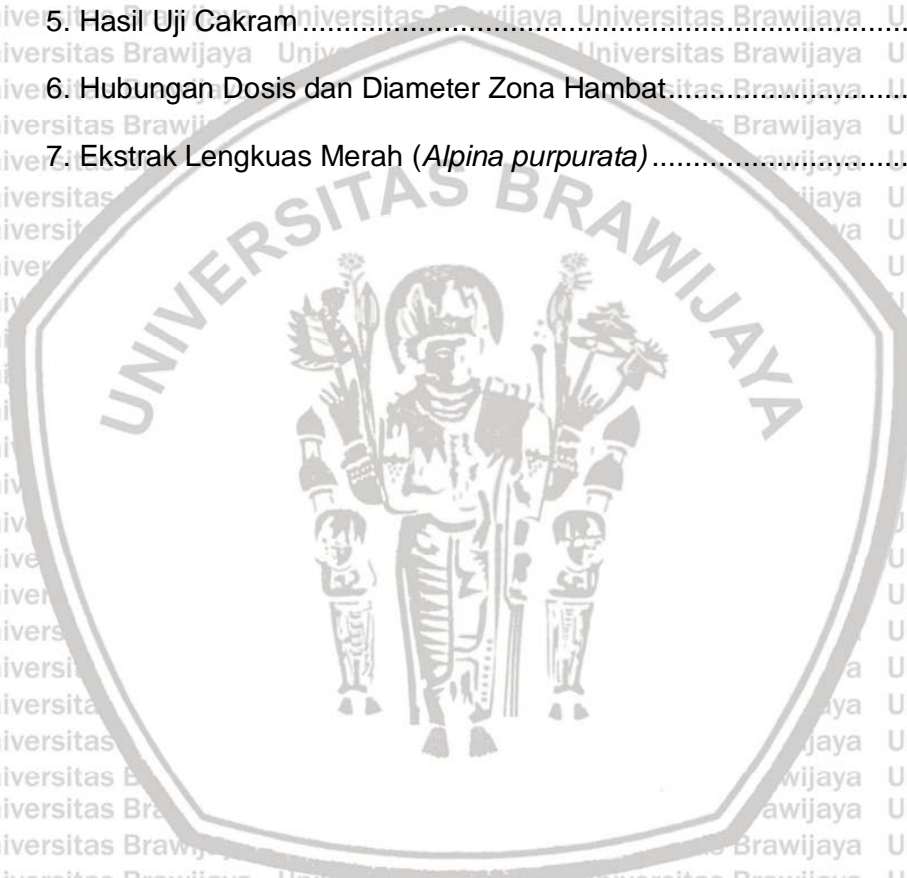


3.2.1 Alat .....	14
3.2.1 Bahan .....	15
3.3 Metode Penelitian .....	15
3.4 Rancangan Penelitian .....	16
3.5 Prosedur Penelitian .....	18
3.5.1 Persiapan Penelitian .....	18
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian .....	25
3.6 Parameter Uji .....	27
3.7 Analisis Data .....	27
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>28</b>
4.1 Ekstrak Lengkuas Merah ( <i>Alpinia purpurata</i> ) .....	28
4.2 Uji MIC (Minimum Inhibiting Concentration) .....	29
4.3 Uji Cakram .....	32
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>38</b>
5.1 Kesimpulan .....	38
5.2 Saran .....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>45</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	5
2. Lengkuas Merah ( <i>Alpinia purpurata</i> ).....	8
3. Denah Penelitian.....	17
4. Hasil Uji MIC (Minimum Inhibiting Concentration).....	30
5. Hasil Uji Cakram.....	33
6. Hubungan Dosis dan Diameter Zona Hambat.....	35
7. Ekstrak Lengkuas Merah ( <i>Alpinia purpurata</i> ).....	29





## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan dalam Minyak Atsiri.....	9
2. Alat Penelitian.....	14
3. Bahan Penelitian.....	15
4. Larutan Standart Mc. Farland .....	20
5. Hasil Uji MIC Menggunakan Spektrofotometer.....	31
6. Klasifikasi Respon Daya Hambat.....	34
7. Hasil Rata-Rata Zona Bening Bakteri <i>Aeromonas hydrophilla</i> .....	33
8. Analisa Sumber Keragaman .....	34
9. Hasil Uji BNT Zona Hambat Bakteri <i>Aeromonas hydrophilla</i> .....	35



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	45
2. Bahan Penelitian.....	49
3. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>Aeromonas hydrophilla</i> .....	52
4. Hasil Uji Fitokimia Lengkuas Merah ( <i>Alpinia purpurata</i> ).....	53
5. Hasil Perhitungan Ekstrak Lengkuas Merah ( <i>Alpinia purpurata</i> ).....	55
6. Pembuatan Larutan Ekstrak Lengkuas Merah ( <i>Alpinia purpurata</i> ).....	56
7. Perhitungan Data Hasil Penelitian.....	58





# 1. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara maritim yang sebagian besar wilayahnya terdiri dari perairan. Menurut Sutiani *et al.* (2020), keanekaragaman ikan di Indonesia sangatlah banyak yaitu terdiri dari 2000 spesies yang terdiri dari ikan tawar, laut, maupun payau. Beberapa jenis dari spesies tersebut telah menjadi komoditas yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan diminati masyarakat di dalam maupun luar negeri. Sehingga, untuk memenuhi permintaan pasar yang terus meningkat dilakukan budidaya terhadap berbagai jenis ikan, terutama ikan air tawar. Menurut Kamelia *et al.* (2018), dalam budidaya sering dihadapkan dengan berbagai kendala. Salah satu kendala yang sering dihadapi yaitu serangan penyakit. Sebanyak 33,9% penyakit pada ikan disebabkan oleh bakteri, 20,7% disebabkan oleh protozoa, dan sisanya disebabkan oleh virus, jamur, cacing dan krustasea.

Serangan penyakit tentunya sangat merugikan bagi petani budidaya yang mengalaminya. Penyakit pada ikan sebagian besar disebabkan oleh bakteri patogen. Menurut Mangunwardoyo *et al.* (2010), proses invasi bakteri patogen kedalam tubuh diawali dengan melekatnya bakteri pada permukaan kulit yaitu dengan memanfaatkan pili, flagela dan kait yang dimiliki untuk bergerak, dan melekat pada lapisan paling luar tubuh ikan yaitu sisik yang dilindungi oleh zat kitin. Tingkat virulensi bakteri ditentukan oleh kemampuan bakteri tersebut untuk menghasilkan enzim dan toksin tertentu yang berperan dalam proses invasi dan infeksi. Salah satu bakteri yang memiliki tingkat virulensi tinggi yaitu *Aeromonas hydrophila*.



Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri gram negatif, yang bersifat patogen pada ikan. Menurut Rahmaningsih et al. (2018), bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri patogen oportunistik yang menyebabkan adanya penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*). Bakteri *Aeromonas hydrophila* banyak menginfeksi ikan-ikan budidaya air tawar di Indonesia seperti ikan lele (*Clarias sp.*), ikan mas (*Cyprinus carpio*), ikan patin (*Pangasius sp.*), ikan betutu (*Osphronemus marmorata*) dan ikan gurame (*Osphronemus gouramy*). Upaya yang dapat dilakukan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri yaitu dengan pemberian antibakteri. Antibakteri bahan kimia apabila diberikan dalam jangka waktu yang lama dan terus menerus maka dapat membahayakan bagi organisme dan lingkungan.

Pengobatan ikan yang terserang oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* sangat dianjurkan untuk menggunakan obat *alternative* dengan memanfaatkan bahan-bahan alami yang memiliki efek samping lebih kecil dan harganya yang ekonomis. Menurut Sari et al. (2017), salah satu bahan obat alami yang berasal dari tumbuhan yaitu lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). Kandungan yang terdapat dalam rimpang lengkuas merah antara lain minyak atsiri, flavonoid, fenol, terpenoid dan lain-lain yang bersifat bakterisidal. Cara kerja dari flavonoid yaitu dengan mendenaturasi protein dan merusak membrane sel pada bakteri. Denaturasi protein menyebabkan aktivitas metabolisme sel terhenti sehingga dapat menyebabkan kematian sel bakteri.

Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang uji daya hambat ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) secara *in vitro* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*.



## 1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan informasi tersebut, kandungan pada lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) diduga dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* sehingga dapat dirumuskan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

- Berapakah dosis maksimum pemberian ekstrak lengkuas merah untuk menghambat bakteri *Aeromonas hydrophila*?
- Berapakah dosis MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) yang digunakan untuk uji cakram pada Bakteri *Aeromonas hydrophila*?

## 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui dosis maksimum ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*.
2. Untuk menentukan dosis MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) yang dapat digunakan untuk uji cakram pada Bakteri *Aeromonas hydrophila*.

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini yaitu sebagai berikut:

H<sub>0</sub> : Diduga pemberian ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) tidak mempengaruhi daya hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila*.

H<sub>1</sub> : Diduga pemberian ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) mempengaruhi daya hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila*.

## 1.5 Manfaat

Penelitian ini dapat digunakan untuk mengetahui manfaat kandungan ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) dalam pengaruhnya terhadap daya hambat bakteri *Aeromonas hydrophila*.

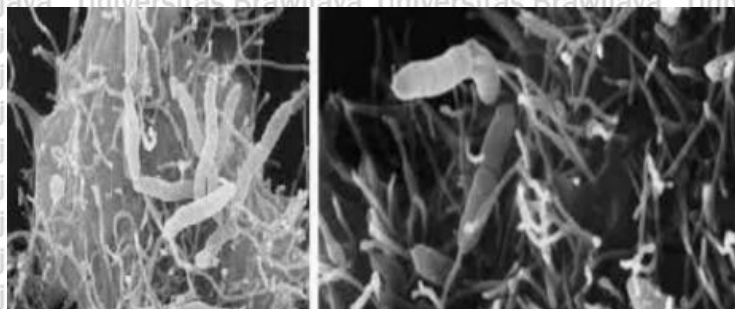




## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi



Gambar 1. Bakteri *Aeromonas hydrophila* (Rahmaningsih, 2018)

Klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* menurut Holt *et al.* (1994) yaitu

sebagai berikut:

Filum	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudanodonadele
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Bakteri *Aeromonas hydrophila* biasanya memiliki bentuk batang dan pendek. Seperti yang dikatakan oleh Mulia *et al.* (2010) bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,0-1,5  $\mu\text{m}$  dan memiliki lebar 15,7-15,8  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif, bersifat motil, bergerak dengan satu polar flagella, oksidatif fermentatif, termasuk bakteri fakultatif anaerobik dan merupakan bakteri penyebab penyakit *Haemorrhagic Septicaemia* yaitu bakteri yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah. Bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran pH 4,7-11 dan pada suhu 25-37°C. Lapisan peptidoglikan

pada bakteri ini cukup tebal yang terdiri dari 30 lapis dengan susunan kompak serta kandungan lemak yang relatif tinggi (11-12%). Morfologi bakteri *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Gambar 1.

### 2.1.2 Habitat

Menurut Austin dan Austin (1993), bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat bertahan hidup pada suhu 27°C. Bakteri ini juga dapat hidup di perairan tawar, laut, maupun payau. Pada lingkungan yang mempunyai konsentrasi kadar garam tertentu menyebabkan bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki kerapatan yang lebih tinggi. Namun, pada umumnya bakteri ini lebih banyak ditemukan di perairan tawar yang banyak mengandung bahan organik (Roberts, 1978).

Menurut Cipriana *et al.* (1984), bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki kemampuan osmoregulasi yang tinggi sehingga mampu hidup di berbagai perairan. *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri umum yang banyak ditemukan di habitat air tawar. Bakteri ini dapat hidup pada lingkungan aerob maupun non aerob serta dapat mencerna material-material seperti hemoglobin dan gelatin. Namun, bakteri ini resisten terhadap *chlorine* dan suhu yang dingin (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

### 2.1.3 Infeksi dan Tanda Penyerangan

Bakteri *Aeromonas hydrophila* menyebabkan infeksi keseluruhan tubuh ikan, yang disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penyebaran yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan kematian benih sampai 90%. Penyakit yang dapat timbul oleh serangan *Aeromonas hydrophila* adalah penyakit bercak merah pada permukaan tubuh, kulit meradang yang diakhiri dengan luka yang seperti bisul. Ikan yang terinfeksi ini biasanya akan mati dalam waktu satu minggu. Hal yang sama juga



Penyakit yang ditimbulkan oleh *Aeromonas hydrophila* adalah busuknya sirip dan ekor, *haemorrhagic septicaemia*, pengelupasan sisik dan pendarahan pada bagian insang dan anus, mata menonjol, dan pembengkakan pada abdomen (Arwin *et al.*, 2016).

Menurut Suryadi *et al.* (2020), serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat mengakibatkan penyakit *hemorhagi septicaemia* atau *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) dimana memiliki ciri-ciri seperti luka pada permukaan tubuh, insang, bercak merah, penumpukan nanah, eksophthalmia, dan perut yang menggembung. Serangan bakteri ini juga dapat menyebabkan borok yang bersifat epizotik pada berbagai spesies ikan air tawar. Bakteri ini cenderung menyerang ikan-ikan dalam kondisi stres yang tinggi maupun dari kualitas air yang buruk. Apabila dalam suatu budidaya yang terinfeksi bakteri ini dalam keadaan padat tebar yang tinggi dapat mengakibatkan kematian sampai 100%. Ikan yang terinfeksi oleh *Aeromonas hydrophila* akan mengalami pendarahan di bagian-bagian tubuh tertentu pada tubuh ikan. Pendarahan tersebut terutama terjadi pada bagian dada, perut dan pangkal sirip. Apabila dilakukan pembedahan pada perut ikan yang terinfeksi oleh *Aeromonas hydrophila* maka terjadi kerusakan pada jaringan hati, ginjal, dan limfa.

## 2.2 Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)

### 2.2.1 Klasifikasi dan morfologi

Menurut Aidah (2020), lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) memiliki daging rimpang yang berwarna merah. Tinggi tanamannya relatif kecil yaitu berukuran sekitar 1-1,5m. Daun lengkuas merah memiliki bentuk yang membulat dan panjang. Pada rimpang lengkuas merah memiliki daging yang cukup tebal yaitu memiliki diameter sekitar 2cm dan bercabang. Ukuran lengkuas merah cenderung

lebih kecil dari lengkuas putih (Gambar 2). Menurut Wagner *et al.* (1999), lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
 Division : Spermatophyta  
 Subdivison : Angiospermae  
 Class : Monocotyledoneae  
 Order : Zingiberales  
 Family : Zingiberaceae  
 Genus : Alpinia  
 Species : *Alpinia Purpurata*



Gambar 2. Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) (Lianah, 2019).

### 2.2.2 Bahan Aktif

Lengkuas merah memiliki beberapa kandungan bahan aktif di dalamnya.

Seperti yang dikatakan oleh Tambun *et al.* (2016), lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) memiliki kandungan minyak atsiri sebesar 1% yang berwarna kuning kehijauan. Selain itu rimpang lengkuas merah juga mengandung senyawa fenol, flavonoid dan terpenoid. Kandungan bahan aktif yang utama yaitu fenol. Kadar fenol pada lengkuas merah setelah di ekstraksi yaitu sekitar 19,069% (Kusriani dan Zahra, 2015). Fenol ditemukan dalam vakuola sel dan salah satu golongan



paling besar dari fenol yaitu flavonoid, dan beberapa golongan bahan polimer penting lainnya seperti lignin, melanin dan tanin. Sifat senyawa fenol yaitu mudah larut dalam air dan sangat peka terhadap oksidasi enzim.

Menurut Kurniawati (2010), kandungan yang berada di dalam lengkuas merah yaitu saponin, tannin, dan flavonoid. Kandungan zat aktif yang lainya yaitu basonin, eugenol, galangan, dan galangol. Menurut Fatimawali *et al.* (2020), setelah dilakukan pengujian menunjukan bahwa ekstrak lengkuas merah mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin. Senyawa flavonoid diketahui dapat menghambat mikroba. Rimpang lengkuas merah memiliki bahan aktif berupa minyak atsiri. Kandungan yang terdapat pada minyak atsiri lengkuas merah menurut Hernani *et al.* (2010) yaitu disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan dalam Minyak Atsiri

No	Kandungan	Persentase
1	$\alpha$ – fenkhil asetat	18,3%
2	Sineol	20,4%
3	E-metil sinamat	4,2%
4	Kamfor	7,7%
5	Guaicol	3,3%

### 2.2.3 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi (Nugroho *et al.*, 2016). Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakterisidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri. Menurut Budiyanto *et al.* (2020), secara visual untuk membedakan keduanya yaitu apabila setelah diinkubasi selama 18-24 jam antibakteri bakteriostatik akan membentuk zona bening dan setelah hari ke empat akan ditumbuhi kembali oleh bakteri pada zona bening tersebut, sedangkan



antibakteri bakteriosidal tidak ditumbuhi bakteri kembali. Dilihat dari cara kerjanya antibiotik bakterisidal menghambat pembentukan dinding sel, sedangkan antibiotik bakteriostatik menghambat replikasi DNA dan sintesis protein pada bakteri. Aktivitas senyawa antibakteri yang diuji secara *in vitro* ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar *paper disc* (Siregar *et al.*, 2012). Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis dinding sel, pengubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel, denaturasi protein sel dan perusakan sistem metabolisme di dalam sel dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler (Ariyani *et al.*, 2018).

Lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) didalamnya terdapat kandungan antibakteri seperti tannin, saponin, dan flavonoid. Menurut Kurniawati (2015), tannin memiliki sifat astrigen (zat yang dapat menciutkan). Cara kerja tannin sebagai antibakteri yaitu dengan merusak membran sel dengan mengikat ion-ion logam seperti Cu dan Fe. Sedangkan mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri, selain itu flavonoid bersifat lipofilik yang dapat merusak membran mikroba. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis (Zahro dan Agustini, 2013).

### 2.3 Uji Efektivitas Antimikroba secara In Vitro

*Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) adalah pengujian untuk menentukan dosis terendah yang dapat membunuh patogen dengan jumlah paling tinggi. Uji MIC dilakukan dengan metode serial dilusi, turbidimetri dan spektrofotometri, serta uji kalibrasi untuk uji sifat bakteriosid (Soelama *et al.*, 2015).



Menurut Sucianti *et al.* (2012), pengujian MIC yang dilakukan dengan metode *serial tube dilution* atau serial dilusi dilakukan dengan cara membuat larutan ekstrak pada media *muller hinton broth* (MHB) dengan konsentrasi yang berbeda.

Kemudian pada masing-masing tabung dinokulasikan bakteri selama 24 jam, Uji antibakteri dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ml biakan bakteri dan dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi media TSA padat. Selanjutnya potongan *paper disk* yang telah dicelupkan pada ekstrak diletakkan pada permukaan media bakteri uji, lalu biakan diinkubasikan selama 24 jam.

Menurut Assidqi *et al.* (2012), tujuan dari uji MIC yaitu untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tertentu. Pengamatan hasil uji MIC jika diamati secara visual juga memiliki kelemahan, yaitu sulit untuk dibedakan tingkat kekeruhannya secara pasti. Hal tersebut dapat diatasi dengan dilakukan pengamatan berikutnya yaitu menggunakan spektrofotometer. Jika selisih nilai OD antara konsentrasi ekstrak yang belum diinokulasi bakteri dengan yang telah diinokulasi bakteri mendekati kontrol positif maka, konsentrasi ekstrak yang digunakan dianggap mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

## **2.4 Ekstraksi**

### **2.4.1 Macam-macam Ekstraksi**

Menurut Saputra (2020), ada beberapa macam metode ekstraksi yaitu maserasi, perkolasi, sokletasi, refluks, dan destilasi uap air. Metode maserasi adalah cara penyaringan sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia di dalam cairan pelarut selama beberapa hari pada suhu kamar.

Metode maserasi perlu dilakukan evaporasi menggunakan alat *rotary evaporator* agar diperoleh ekstrak pekat (Primawati dan Jannah, 2019). Metode perkolasi yaitu metode ekstraksi yang cara kerjanya yaitu menarik senyawa aktif dengan



mencampurkan cairan penyari dengan serbuk simplisa yang kemudian dialirkan kebawah melalui penyaring berpori menggunakan alat yang dinamakan perkolator.

Metode selanjutnya yaitu metode sokletasi, merupakan metode yang proses penyaringan simplisanya dilakukan secara berkelanjutan. Proses sokletasi ditandai dengan beningnya cairan penyari. Metode selanjutnya yaitu refluks, metode ini juga termasuk dalam metode yang berkesinambungan yang dilakukan 3 kali dalam waktu 4 jam dimana setelah ekstrak jadi akan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Metode yang terakhir yaitu destilasi uap air, metode ini digunakan untuk menyari simplisa yang mengandung komponen kimia yang memiliki titik didih tinggi pada tekanan udara normal.

Metode maserasi merupakan proses penyaringan simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan sesekali pengadukan pada temperatur ruang. Proses ekstraksi dengan metode maserasi tidak membutuhkan proses pemanasan, hal ini karena proses pemanasan dapat mengakibatkan senyawa yang bersifat volatil mudah menguap (Widianingsih, 2016). Prinsip kerja ekstraksi dengan metode maserasi adalah proses tercapainya kesetimbangan konsentrasi antara senyawa aktif pada tanaman dengan yang telah berpindah kepelarut. Pengadukan dilakukan secara terus-menerus agar proses ekstraksi berjalan optimal (Agustina *et al.*, 2018).

#### 2.4.2 Pelarut

Menurut Ananingsih dan Soedarini (2017), berdasarkan kepolaranya pelarut dibagi menjadi 2 yaitu pelarut polar dan pelarut non polar. Pelarut non polar dapat mengekstrak beberapa komponen volatile, sedangkan pelarut polar merupakan pelarut yang cocok digunakan untuk ekstraksi oleoresin. Senyawa kimia dalam suatu bahan akan mudah larut apabila menggunakan pelarut yang sama polaritasnya. Seperti pelarut etanol yang digunakan untuk ekstraksi



oleoresin karena memiliki beda polaritas kecil dibandingkan pelarut heksan maupun petroleum eter. Etanol merupakan jenis pelarut yang mudah menguap, tidak berwarna, dan mudah terbakar.

Menurut Inggrid *et al.* (2018), ada beberapa syarat pelarut yang dapat digunakan dalam proses ekstraksi yaitu bersifat selektif, stabil secara kimia dan termal, memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstrak, tidak bereaksi dengan bahan yang di ekstrak. Pada dasarnya pelarut yang sering digunakan yaitu air, etanol, etanol-air. Hal tersebut karena air murah, mudah didapat, tidak mudah menguap, tidak beracun, dan alamiah. Sedangkan etanol lebih selektif, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhi mikroba, dan dapat melarutkan alkaloid, flavonoid, glikosida, kurkumin, antrakinon, steroid, damar, dan klorofil (Najib, 2018).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat, Waktu/ Jadwal Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di CV Sumber Rejeki Bandaran, Pasuruan, Jawa Timur pada bulan April 2021.

#### 3.2 Metode Penelitian

##### 3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian Pengaruh Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro disajikan pada Tabel 2. Alat dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 2. Alat Penelitian

No	Nama Alat	Kegunaan
1	Tabung reaksi	Peremajaan bakteri di media miring
2	Rak tabung reaksi	Meletakkan tabung reaksi
3	Erlenmeyer	Pembuatan media
4	Pinset	Mengambil kertas cakram
5	Gelas ukur	Mengukur media cair
6	Beaker glass	Wadah tabung reaksi saat proses sterilisasi
7	Inkubator	Inkubasi bakteri
8	Jarum ose	Mengambil dan menanam bakteri
9	Mikropipet	Mengambil larutan ukuran 1001.000 mikronliter
10	Autoclave	Sterilisasi alat dan bahan sebelum digunakan
11	Lemari pendingin	Penyimpanan bakteri dan bahan
12	Blender	Menghaluskan bahan kering menjadi simplisia
13	Timbangan digital	Menimbang dengan ketelitian $10^{-3}$
14	Laminary Air Flow (LAF)	Penanaman bakteri dalam kondisi steril
15	Bunsen	Pembakaran dan pengkondisian steril
16	Corong	Memudahkan saat memasukkan bahan maserasi kedalam Erlenmeyer
17	Sprayer	Wadah alkohol
18	Rotary vacuum evaporator	Memisahkan cairan dan padatan pada proses pembuatan ekstrak
19	Blue tip	Mengambil campuran bakteri
20	Spatula	Mengaduk dan mengambil ekstrak
21	Nampan	Meletakkan alat dan bahan
22	Jangka sorong	Mengukur diameter zona hambat
23	Vortex mixer	Menghomogenkan larutan
24	Hot plate	Memanaskan media
25	Gunting	Alat untuk memotong benang



No	Nama Alat	Kegunaan
26	Baskom	Tempat saat proses maserasi
27	Botol film	Tempat untuk mengencerkan ekstrak
28	Cawan petri	Tempat untuk menanam bakteri dan meletakkan kertas cakram

### 3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian Pengaruh Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro disajikan pada Tabel 3. Bahan dapat dilihat pada

Lampiran 2.

Tabel 3. Bahan Penelitian

No	Nama Bahan	Kegunaan
1	lengkuas merah ( <i>Alpinia purpurata</i> )	Ekstrak yang akan diujikan daya hambatnya
2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Bakteri yang diamati dalam penelitian
3	MHA ( <i>Mueller Hinton Agar</i> )	Media hidup bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>
4	TSA ( <i>Tryptic Soy Agar</i> )	Media peremajaan bakteri
5	TSB ( <i>Tryptitone Soy Broth</i> )	Media pengencer bakteri
6	Alkohol 70%	Bahan aseptis
7	DMSO 10%	Pelarut ekstrak
8	Etanol 96%	Pelarut saat proses maserasi
9	Aquades	Pelarut media
10	Spirtus	Bahan bakar pada Bunsen
11	Kertas saring	Menyaring hasil maserasi
12	Plastik warp	Membungkus bagian mulut gelas kaca
13	Aluminium foil	Menutupi alat pada proses sterilisasi
14	Koran	Pembungkus alat saat proses sterilisasi
15	Kertas cakram ukuran 6 mm	Mengetahui besar zona bening dari ekstrak lengkuas merah
16	Kertas label	Pemberi tanda pada setiap perlakuan yang digunakan
17	Kapas	Penutup alat saat proses sterilisasi
18	Tisu	Mengeringkan alat setelah dicuci

### 3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen. Metode penelitian eksperimen merupakan salah satu metode dalam



penelitian kuantitatif. Metode eksperimen ditujukan untuk meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu atau lebih variabel pada satu (atau lebih) kelompok eksperimental, dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi. Manipulasi berarti mengubah secara sistematis sifat/nilai variabel bebas. Dalam dunia pendidikan, penelitian eksperimen merupakan kegiatan penelitian yang bertujuan untuk menilai pengaruh suatu perlakuan/tindakan pendidikan terhadap tingkah laku siswa atau menguji hipotesis tentang ada tidaknya pengaruh tindakan itu bila dibandingkan dengan tindakan lain (Payadnya dan Jayantika, 2018).

### 3.4 Rancangan Penelitian

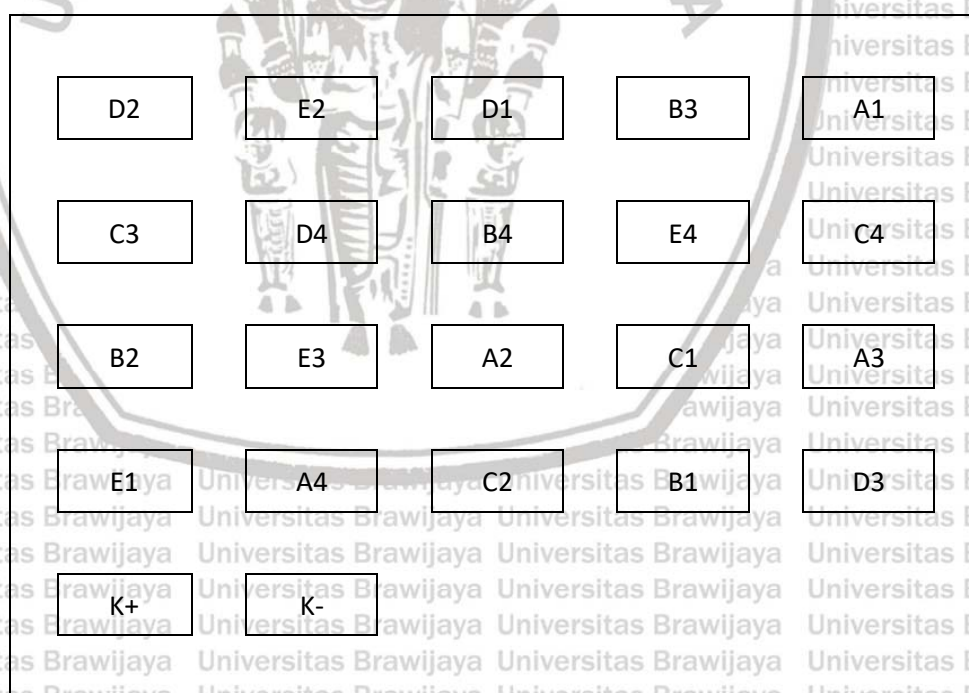
Rancangan yang digunakan pada penelitian uji daya hambat ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* secara *in vitro* adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana dibanding rancangan yang lainnya. RAL digunakan apabila kondisi unit percobaan yang digunakan relatif homogen. Adapun kelebihan yang dimiliki jika menggunakan metode RAL, yaitu pembuatan *layout* percobaan lebih mudah dilakukan, analisis sidik ragam relatif lebih sederhana, dan fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan (Azrai *et al.*, 2017).

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari lima perlakuan dan dua kontrol yaitu kontrol positif dan negatif serta dengan 4 kali ulangan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan dosis terbaik ekstrak untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Perlakuan yang digunakan adalah pemberian ekstrak lengkuas merah dengan dosis yang berbeda sebagai daya hambat terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Penelitian ini



menggunakan penelitian pendahuluan guna menentukan dosis daya hambat yang tepat dalam penggunaan ekstrak lengkuas merah, dimana menggunakan skala log dengan dosis 0,01 ppm, 0,1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm serta kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik Chloramphenicol 30 ppm dan kontrol negatif tanpa pemberian ekstrak. Selanjutnya media diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm dan dilihat kekeruhan warnanya.

Berdasarkan hasil diatas menunjukan bahwa ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) dengan dosis 100ppm sudah dapat menghambat bakteri *Aeromonas hydrophila* sehingga dilanjutkan dengan uji cakram menggunakan dosis 100ppm, 105ppm, 110ppm, 115ppm, 120ppm. Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dan 2 kontrol yaitu positif dan negatif serta dengan 4 kali ulangan. Denah penelitian disajikan pada Gambar 3 dibawah ini:



Gambar 3. Denah Penelitian.

Keterangan:

K+ : Perlakuan kontrol (+) yang diberi antibiotik Chloramphenicol 30 ppm.

K- : Perlakuan kontrol (-) tanpa diberi ekstrak lengkuas merah.

Perlakuan A : Perlakuan dengan dosis ekstrak lengkuas merah 100 ppm.

Perlakuan B : Perlakuan dengan dosis ekstrak lengkuas merah 105 ppm.

Perlakuan C : Perlakuan dengan dosis ekstrak lengkuas merah 110 ppm.

Perlakuan D : Perlakuan dengan dosis ekstrak lengkuas merah 115 ppm.

Perlakuan E : Perlakuan dengan dosis ekstrak lengkuas merah 120 ppm.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Penelitian

##### a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan menggunakan *autoclave*, adapun prosedur penggunaan *autoclave* adalah sebagai berikut:

1. Alat-alat yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu menggunakan sabun cuci, kemudian dikeringkan dan dibungkus menggunakan kertas bekas atau koran dan diikat dengan menggunakan benang kasur, sedangkan untuk tabung reaksi terlebih dahulu ditutup menggunakan kapas sebelum dibungkus.
2. Akuades secukupnya dituangkan ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas bekas atau koran dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris. Klep uap dipastikan pada posisi tegak.
3. Tombol ON ditekan, kemudian suhu diputar maksimal lalu klep uap pada *autoclave* ditutup.



4. Setelah mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan selama 15 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada dibagian atas tutup *autoclave*.

5. Tombol OFF ditekan, tunggu hingga beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian dibuka kran uap, lalu dibuka penutup *autoclave* dengan simetris.

6. Alat dan bahan yang sudah disterilkan dapat diambil

7. Alat yang telah disterilkan disimpan di dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan di dalam lemari pendingin.

#### **b. Sterilisasi Tempat Perlakuan**

Sterilisasi tempat perlakuan dilakukan secara kimia dengan cara memberikan semprotan berupa alkohol 70% disekitar tempat penelitian. Selain itu, dilakukan sterilisasi fisika dengan menggunakan penyinaran UV sebelum menggunakan LAF (*Laminary Air Flow*) selama 15 menit sebelum dan sesudah dilakukan penelitian untuk mematikan semua bakteri dan meghindari terjadinya kontaminasi. Menurut Calandry *et al.* (2017), sterilisasi LAF dilakukan dengan cara menyalakan lampu UV (ultraviolet) pada LAF selama 2 jam untuk mematikan mikroorganisme atau kontaminan yang ada di dalam ruang kerja. Kemudian lampu UV dimatikan dan diganti menyalakan lampu neon serta blower yang ada pada LAF sehingga ruang kerja siap digunakan. Meja kerja dan peralatan inokulasi serta peralatan lainnya disemprot alkohol terlebih dahulu beserta tangan yang akan masuk kedalam LAF.

#### **c. Persiapan Bakteri *Aeromonas hydrophila***

Bakteri *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah dan hasil uji biokimia disajikan pada lampiran 3. Bakteri diperoleh dengan kepadatan  $3 \times 10^8$  sel/ml hasil

pengukuran pada media *Tryptic Soy Broth* yang dicocokkan dengan metode Mc. Farland.

Perhitungan jumlah bakteri yang terdapat pada media *Tryptic Soy Broth* dapat dilakukan dengan metode Mc. Farland dengan cara sebagai berikut:

1. 11 tabung reaksi disiapkan dalam kondisi bersih
2. Membuat larutan Mc. Farland yaitu  $H_2SO_4$  murni 1% dan larutan BaCl 1%
3. Kedua larutan tersebut dicampurkan dalam tabung berdasarkan perbandingan pada ketentuan Mc. Farland. Kemudian diisi 10 ml pada masing-masing tabung dan ditutup
4. Warna suspensi bakteri pada media cair dicocokkan dengan tabung larutan standart Mc. Farland
5. Tabel standart Mc. Farland menurut Sutton (2011), disajikan pada Tabel 4.

Table 4. Larutan Standart Mc. Farland

Nomor Larutan Mc. Farland	CFU ( $\times 10^8$ /ml)	1% BaCl (ml)	1% $H_2SO_4$ (ml)
0,5	<3	0,05	9,95
1	3	0,1	9,9
2	6	0,2	9,8
3	9	0,3	9,7
4	12	0,4	9,6
5	15	0,5	9,5
6	18	0,6	9,4
7	21	0,7	9,3
8	24	0,8	9,2
9	27	0,9	9,1
10	30	1,0	9,0

#### d. Pembuatan Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)

Adapun cara pembuatan ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) yaitu sebagai berikut:

1. 3 kg lengkuas merah yang didapat dari daerah Batu, Jawa timur, selanjutnya dikeringkan sampai benar-benar kering.



2. Setelah kering lengkuas merah kemudian dihaluskan menggunakan blender dan didapatkan hasil berupa serbuk.

3. Untuk menghasilkan ekstrak lengkuas merah dapat menggunakan metode maserasi dengan perbandingan 1:6 dimana serbuk lengkuas merah sebanyak 100 gram dan etanol 96% sebanyak 600 ml kemudian direndam selama 3x24 jam dalam suhu ruang.

4. Larutan yang diperoleh dari maserasi dilakukan evaporasi menggunakan *Rotary Vacum Evaporator* dengan suhu 60°C sampai menghasilkan ekstrak dalam bentuk pasta.

5. Hasil dari ekstraksi kemudian disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4°C untuk mencegah rusaknya ekstrak.

6. Hasil ekstrak yang didapatkan yaitu sebanyak 15,56gram sehingga rendemen yang didapatkan sebesar 15,56%.

#### e. Pembuatan Media

##### - Media TSA (*Tryptic Soy Agar*) untuk agar miring

Penelitian ini menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophilla*, sehingga media yang digunakan untuk peremajaan bakteri yaitu TSA (*Tryptic Soy Agar*), kandungan media TSA (*Tryptic Soy Agar*) dapat dilihat pada Lampiran 8. Adapun proses pembuatan agar miring adalah sebagai berikut:

1. Media TSA (*Tryptic Soy Agar*) ditimbang 0,56gram dengan menggunakan timbangan analitik  $10^{-4}$  gram.

2. Media TSA dilarutkan dengan aquades sebanyak 14 ml yang dimasukkan kedalam Erlenmeyer

3. TSA diaduk menggunakan spatula hingga larut secara homogen.

4. Media yang telah dihomogenkan dimasukkan kedalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 7 ml.

5. Tabung reaksi ditutup kapas dan dibungkus menggunakan aluminium foil serta diikat dengan tali.
6. Media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
7. Tabung reaksi yang berisi media steril dimiringkan dengan kemiringan 30° dan ditunggu hingga padat.
8. Dilakukan strike dengan cara zig-zag dalam keadaan steril.

#### **Media TSB (*Tryptic Soy Broth*) untuk Kultur Bakteri**

Media yang digunakan untuk kultur bakteri *Aeromonas hydrophila* yaitu media TSB (*Tryptic Soy Broth*), kandungan media TSB (*Tryptic Soy Broth*) dapat dilihat pada Lampiran 8. Adapun proses pembuatan media kultur bakteri sebagai berikut:

1. Media TSB ditimbang sebanyak 0,24gram menggunakan timbangan analitik 10<sup>-4</sup>gram kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer.
2. Media TSB dilarutkan dengan aquades sebanyak 8 ml yang dimasukkan kedalam Erlenmeyer.
3. TSB diaduk menggunakan spatula hingga larut secara homogen.
4. Media yang sudah dihomogen kan dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 8 ml.
5. Tabung reaksi ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil serta diikat dengan tali.
6. Media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
7. Media dibiarkan dingin supaya bakteri tidak mati apabila diinokulasi pada saat dalam keadaan media panas.



**Media TSB (*Tryptic Soy Broth*) untuk Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)**

1. Media TSB ditimbang 1,92 gram dengan menggunakan timbang analitik  $10^{-4}$  gram dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer.
2. Media di larutkan dengan aquades 64 ml dan dihomogenkan
3. Larutan dituang ke dalam 8 tabung reaksi masing-masing 8 ml.
4. Tabung reaksi ditutup kapas dan di bungkus aluminium foil serta diikat dengan tali.
5. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

**Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) untuk Uji Cakram**

Penelitian ini menggunakan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) sebagai media uji cakram untuk bakteri *Aeromonas hydrophila*, kandungan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dapat dilihat pada Lampiran 8. Adapun proses pembuatan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) sebagai berikut:

1. Media MHA selanjutnya ditimbang sebanyak 3,8 gram dengan menggunakan timbangan analitik  $10^{-4}$  gram.
2. Media dimasukkan kedalam erlen meyer, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 ml dan dihomogenkan.
3. Erlenmeyer ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil serta diikat dengan tali.
4. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
5. Media dituang ke dalam cawan petri dengan masing-masing cawan diisi  $\pm 20$  ml yang dilakukan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*) untuk menghindari kontaminasi dari bakteri lain, ditunggu hingga memadat.

**f. Peremajaan Bakteri *Aeromonas hydrophila***

Penelitian ini menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila* yang didapat dari isolat murni kemudian dilakukan peremajaan untuk menginokulasi bakteri kembali. Peremajaan bakteri dilakukan dalam keadaan steril dengan menggunakan jarum ose yang telah dipanaskan di atas bunsen kemudian isolat digores pada media TSA secara zig-zag dan setelah itu diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam. Peremajaan bakteri bertujuan agar bakteri memulai metabolisme kembali. Suhu yang digunakan dalam peremajaan bakteri yaitu 32°C (Wijayati et al., 2014).

**g. Kultur Bakteri *Aeromonas hydrophila***

Prosedur dalam kultur bakteri yaitu biakan bakteri yang sudah diremajakan pada media agar miring diambil menggunakan jarum ose sebanyak 1 gores dalam keadaan steril. Jarum ose yang telah berisi bakteri kemudian dicelupkan pada media yang sudah dipersiapkan. Media disimpan pada inkubator dengan suhu 32°C selama 24 jam.

**h. Pembuatan Dosis Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)**

Ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) cair yang telah disaring menggunakan kertas saring kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 60°C hingga menjadi bentuk pasta. Ekstrak lengkuas merah dalam bentuk pasta diencerkan menggunakan pelarut berupa DMSO 10% dan aquades, hasil perhitungan disajikan pada lampiran 6. Adapun pembuatan dosis ekstrak legkuas merah yaitu sebagai berikut:

1. Ekstrak dan pelarut disiapkan, kemudian tentukan dosis yang ingin digunakan dalam satuan ppm dimana perhitungan ppm didapatkan dari mg ekstrak : liter pelarut.
2. Liter dikonversikan menjadi mililiter dan dibuat dosis tertinggi yang digunakan sebagai induk.



3. Dosis ekstrak yang lebih kecil dibuat dengan cara pengenceran yang dihitung menggunakan rumus:

$$V_1.N_1 = V_2.N_2$$

Keterangan:

$V_1$  = Volume larutan stok (ml)

$N_1$  = Konsentrasi larutan stok (ppm)

$V_2$  = volume larutan yang diinginkan (ml)

$N_2$  = konsentrasi larutan yang diinginkan (ppm)

4. Ekstrak yang sudah diencerkan disimpan di dalam lemari pendingin.

### 3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

#### a. Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)

Adapun cara melaksanakan uji MIC yaitu sebagai berikut:

1. MIC dapat dilakukan dengan menggunakan TSB steril yang dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 8 ml.
2. Bakteri yang telah dikultur pada media Triptic Soy Broth dimasukan ke dalam 8 tabung reaksi sebanyak 1 ml untuk masing-masing tabungnya.
3. Ekstrak lengkuas merah ditambahkan dalam 6 tabung reaksi yang berisi TSB dengan dosis yang berbeda pada setiap tabungnya 1000ppm, 100ppm, 10ppm, 1ppm, 0,1ppm, 0,001ppm. Dan 2 tabung reaksi sebagai kontrol positif yang diberi antibakteri sintesis (*Chloramphenicol*) 30 ppm dan kontrol negatif tanpa pemberian ekstrak. Penggunaan Chloramphenicol sebagai antibakteri dan kontrol positif karena memiliki spektrum luas yang efektif untuk menghambat bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif.
4. Tabung reaksi diinkubasi dengan suhu 32°C selama 24 jam.

5. Media diperiksa kekeruhannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm, kemudian ditulis nilai absorbansi yang tertera pada monitor spektrofotometer.

6. Dosis uji MIC didasarkan pada tabung yang bening pertama kali dan nilai absorbansi yang mendekati kontrol positif. Nilai MIC digunakan untuk menentukan dosis paling kecil dalam pengobatan yang berefek terhadap suatu jamur atau bakteri (Fitriani *et al.*, 2012).

#### b. Uji Cakram

Adapun prosedur pelaksanaan uji cakram yaitu sebagai berikut:

1. Cawan petri yang di dalamnya terdapat media MHA disiapkan terlebih dahulu.
2. Dosis perlakuan ekstrak yang akan diujikan disiapkan.
3. Kertas cakram steril direndam dengan larutan ekstrak lengkuas merah dengan dosis yang berbeda selama 15-20 menit.
4. Bakteri diambil sebanyak 100  $\mu$ l dengan menggunakan mikropipet dan disebar pada seluruh permukaan MHA dengan menggunakan *triangle*.
5. Kertas cakram yang telah direndam kemudian diletakkan pada media yang telah terdapat bakteri.
6. Cawan petri diinkubasi dalam suhu 32°C selama 18-24 jam.
7. Media diamati dengan cara mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan mikroba terhadap antibiotik atau bahan antimikroba yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona bening.
8. Zona bening yang telah diukur, dibandingkan berdasarkan pedoman Davis dan Stout (1971) (Ngantung *et al.*, 2019).



### 3.6 Parameter Uji

Parameter uji dalam penelitian adalah hasil pengamatan yaitu hasil zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram yang sudah ditumbuhi oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hal ini dapat dilakukan dengan cara mengukur diameter zona bening di sekeliling kertas cakram dari masing-masing perlakuan yaitu konsentrasi maksimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

### 3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis secara statistik menggunakan analisis *Analysis of Variance* (ANOVA) sesuai rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ). Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon zona hambat (zona bening) yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yaitu untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Kemudian untuk mengetahui hubungan antar perlakuan dengan diameter zona hambat (zona bening) digunakan uji *polynomial orthogonal* yang memberikan keterangan mengenai pengaruh keterangan terbaik.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)

Pembuatan ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Lengkuas merah memiliki kadar air sebesar 50% dan menghasilkan rendemen sebesar 15,56% yang perhitungannya disajikan pada Lampiran 5. Adapun hasil rendemen ekstrak lengkuas merah yang didapatkan pada penelitian Niah *et al.* (2019), yaitu sebesar 9,37% dan pada penelitian Rohmah *et al.* (2019), rendemen ekstrak lengkuas merah yang didapatkan sebesar 3,8%. Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya yang digunakan sebagai pembandingan, rendemen ekstrak lengkuas merah yang didapatkan pada penelitian ini tergolong tinggi. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya yaitu lama waktu ekstraksi, durasi waktu yang digunakan berpengaruh terhadap efisiensi proses. Waktu ekstraksi yang pendek akan memberikan hasil rendemen yang rendah sebab tidak semua komponen terekstrak (Kristian *et al.*, 2016). Selain lama waktu ekstraksi, tinggi rendahnya persentase hasil rendemen juga dipengaruhi oleh jenis pelarut. Hal ini sesuai dengan konsep *like dissolve like* dimana zat akan terlarut dan terekstrak dengan baik apabila pelarut yang digunakan memiliki tingkat kepolaran yang sama (Yuswi, 2017). Menurut Widyawati *et al.* (2019), semakin tinggi nilai rendemen yang didapatkan menandakan bahwa nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak dan semakin tinggi zat berkhasiat yang dihasilkan. Pelarut yang digunakan untuk membuat ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) pada penelitian ini yaitu menggunakan etanol 96%. Sesuai dengan pendapat Aminah *et al.* (2017), etanol termasuk dalam pelarut polar yang memiliki kelebihan dibanding metanol maupun air. Senyawa kimia yang mampu disari dengan etanol lebih banyak dari



pada penyari metanol dan air. Adapun gambar ekstrak lengkuas merah disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)

#### 4.2 Uji MIC (Minimum Inhibiting Concentration)

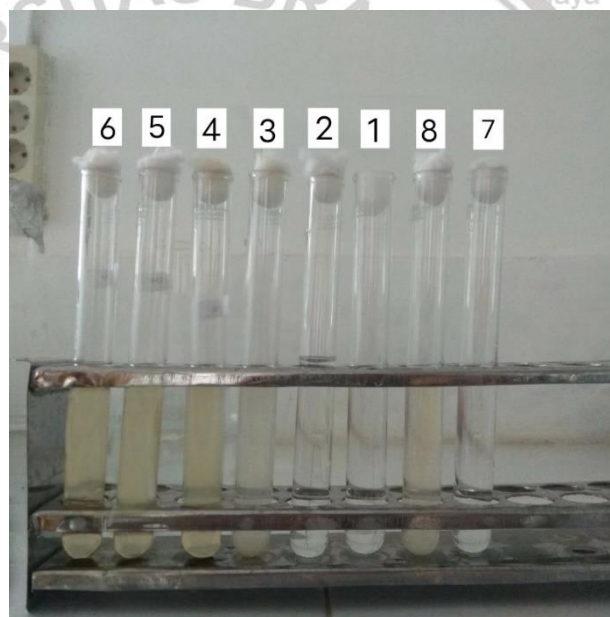
Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) yang dilakukan pada penelitian ini dengan beberapa macam dosis yang berbeda menggunakan ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) berfungsi untuk menentukan dosis terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Uji MIC ekstrak lengkuas merah menggunakan skala log dengan menggunakan dosis yang berbeda yaitu 1000 ppm; 100 ppm; 10 ppm; 1 ppm; 0,1 ppm; 0,01 ppm. Berdasarkan hasil yang didapat yaitu dosis 100 ppm yang dapat digunakan untuk menghambat bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Uji MIC menunjukkan adanya hasil yang berbeda setiap perlakuan. Hal tersebut diamati dari warna yang nampak setelah proses inkubasi selama 24 jam.

Tidak hanya berdasarkan kekeruhan warna, melainkan juga nilai absorbansi yang

muncul ketika dilakukan uji menggunakan spektrofotometer. Menurut Andayani et al.(2019), penentuan MIC dilihat berdasarkan kekeruhan atau kejernihan suatu sampel yang tabung reaksi dan kemudian dibandingkan dengan kontrol yang ada.

Apabila hasil uji spektrofotometer mendekati kontrol positif menandakan bahwa ekstrak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Pada hasil spektrofotometer didapatkan bahwa konsentrasi 100 ppm menghasilkan nilai absorbansi dibawah kontrol negatif dan mendekati kontrol positif, sehingga dapat dikatakan bahwa dosis minimum ekstrak lengkuas merah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* yaitu sebesar 100 ppm. Hasil uji MIC disajikan dalam Gambar 5.



Gambar 5. Hasil Uji MIC (Minimum Inhibiting Concentration)

Keterangan:

Tabung 1: 1000 ppm, Tabung 2: 100 ppm, Tabung 3: 10 ppm, Tabung 4: 1 ppm, Tabung 5: 0,1 ppm; Tabung 6: 0,01 ppm, Tabung 7: Kontrol (+), Tabung 8: Kontrol (-)

Hasil berdasarkan indikator warna diatas menunjukan bahwa dosis 100 ppm dapat menghambat bakteri *Aeromonas hydrophilla* yang menunjukan warna bening. Hasil uji MIC disajikan dengan pengukuran nilai absorbansi yang



menggunakan spektrofotometer dan didapatkan hasil yang berbeda dari setiap tabungnya yang disajikan pada Tabel 5.

Table 5. Hasil Uji MIC Menggunakan Spektrofotometer

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Warna
1	1000	0,135	Bening
2	100	0,203	Bening
3	10	0,278	Sedikit Bening
4	1	0,359	Keruh
5	0,1	0,588	Keruh
6	0,01	0,702	Keruh
7	Kontrol Positif (+)	0,183	Bening
8	Kontrol Negatif (-)	0,707	Keruh

Keterangan:

Tabung nomor 2: Konsentrasi 100 ppm yang dapat menghambat bakteri

*Aeromonas hydrophila*.

Kontrol (+) : Perlakuan menggunakan antibiotik Chloramphenicol 30 ppm

Kontrol (-) : Perlakuan tanpa penggunaan ekstrak.

Hasil berdasarkan tabel diatas menunjukan bahwa dosis 100 ppm dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* hal tersebut karena nilai absorbansi pada dosis 100 ppm mendekati nilai absorbansi kontrol positif. Nilai MIC yang digunakan yaitu berdasarkan hasil spektrofotometer. Dosis yang digunakan yaitu 100 ppm karena nilai absorbansinya mendekati kontrol positif dan warna pada tabungnya bening. Hal tersebut dikarenakan dalam ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) memiliki senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak lengkuas merah pada lampiran 4 disebutkan bahwa senyawa tersebut antara lain yaitu flavonoid, tannin, fenol, dan saponin. Menurut Abubakar *et al.* (2019), senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein. Dimana protein yang menggumpal tidak dapat berfungsi lagi sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri dan pada akhirnya bakteri kehilangan kemampuan untuk membentuk koloni dan menyebabkan



kematian. Senyawa kimia tannin yang terkandung dalam lengkuas merah memiliki sifat pengelat yang berefek spasmolitik, menciutkan atau mengerutkan sel pada bakteri sehingga pertumbuhan bakteri akan terganggu. Selain itu tannin juga memiliki daya hambat bakteri yang bekerja dengan cara mempresipitasi protein karena tannin memiliki efek yang sama dengan fenolik.

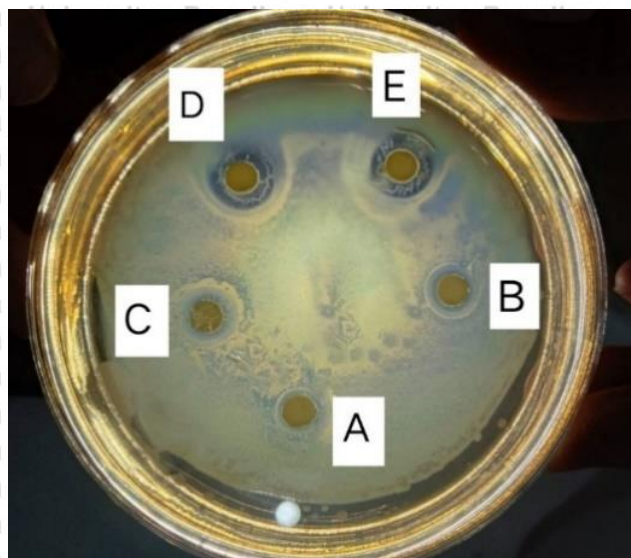
#### 4.3 Uji Cakram

Zat antibakteri yang digunakan untuk menghambat bakteri *Aeromonas hydrophila* yaitu ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). Kemampuan daya hambat yang dimiliki oleh ekstrak lengkuas merah dapat diketahui dengan menggunakan metode cakram. Menurut Nurhayati *et al.* (2020), metode difusi cakram merupakan teknik yang sering digunakan, selain itu pengujian menggunakan teknik difusi cakram dapat dilakukan dengan waktu yang relatif cepat. Metode ini dapat digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai jenis bakteri. Metode difusi cakram dilakukan dengan menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antibakteri yang diletakan di permukaan media yang telah diinokulasi bakteri. Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram menunjukkan ada tidaknya bakteri yang tumbuh.

Penelitian ini pada uji cakram menggunakan dosis 100 ppm, 105 ppm, 110 ppm, 115 ppm, 120 ppm, kontrol positif, dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu antibakteri *chloramphenicol* 30 ppm dan kontrol negatif tanpa pemberian ekstrak. Hasil zona hambat yang dihasilkan *chloramphenicol* 30 ppm sebagai kontrol positif yaitu sebesar 17,57 mm, sedangkan kontrol negatif tidak menghasilkan zona bening di sekitar cakram.

Gambar dari hasil uji daya hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* setelah pemberian ekstrak lengkuas merah disajikan pada Gambar 6 dan data hasil uji daya hambat disajikan pada Tabel 6.





Gambar 6. Hasil Uji Cakram

Keterangan:

Dosis perlakuan A = 100ppm, B= 105ppm, C=110ppm, D=115ppm, dan E=120ppm.

Table 6. Hasil Zona Bening Bakteri *Aeromonas hydrophilla*

perlakuan	Ulangan				Total	Rata-Rata $\pm$ SD
	1	2	3	4		
A (100 ppm)	8,64	8,96	8,63	8,9	35,13	8,78 $\pm$ 0,17
B (105 ppm)	9,02	9,15	9,42	9,36	36,95	9,24 $\pm$ 0,19
C (110 ppm)	9,57	9,64	9,59	9,7	38,50	9,63 $\pm$ 0,06
D (115 ppm)	9,73	9,82	9,75	9,91	39,21	9,80 $\pm$ 0,08
E (120 ppm)	10,08	10,14	10,28	10,02	40,52	10,13 $\pm$ 0,11
Total					190,31	

Berdasarkan data di atas menunjukkan bahwa ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* yaitu terbentuk zona bening. Besarnya diameter zona bening yang dihasilkan dipengaruhi oleh dosis perlakuan yang diberikan. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin besar juga diameter zona bening yang terbentuk, begitupun sebaliknya apabila semakin rendah dosis yang diberikan maka semakin kecil pula zona bening yang terbentuk. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Kandou dan Pandiangan (2018), besar kecilnya zona hambat atau zona bening



yang terbentuk dipengaruhi oleh kandungan dan konsentrasi ekstrak yang digunakan. Selain itu faktor lain yang mempengaruhi yaitu densitas dan viskositas media kultur, kemampuan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik pada cakram kertas, sensitivitas mikroorganisme uji terhadap antibiotik dan interaksi antara antibiotik dan medium (Putri *et al.*, 2016). Klasifikasi respon daya hambat menurut Mahmudah dan Atun (2017) disajikan pada Tabel 7.

Table 7. Klasifikasi Respon Daya Hambat.

Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan
$\leq 5$ mm	Lemah
5 -10 mm	Sedang
10 – 20 mm	Kuat
$\geq 20$ mm	Sangat Kuat

Berdasarkan data diatas dapat dikatakan bahwa respon daya hambat ekstrak lengkuas merah terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* pada perlakuan A, B, C dan termasuk dalam kategori sedang, sedangkan perlakuan E termasuk dalam kategori kuat.

Berdasarkan data hasil uji cakram ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) yang menggunakan 5 perlakuan dan 4 ulangan didapatkan diameter zona hambat atau zona bening yang telah dilakukan pengamatan selama 24 jam pada Tabel 7. Selanjutnya untuk memperoleh hasil dari pengaruh perlakuan ekstrak lengkuas merah terhadap zona bening maka dilakukan analisa sumber keragaman. Data analisa sumber keragaman disajikan pada Tabel 8.

Table 8. Analisa Sumber Keragaman

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%
Perlakuan	4	4,35	1,09	62,85*	3,06
Acak	15	0,26	0,02		
Total	19	4,61			

Keterangan: (\*) = Berbeda nyata.

Berdasarkan data hasil analisa sumber keragaman didapatkan F hitung senilai 62,85, dimana hasil tersebut lebih besar dari nilai F5%. Hal tersebut



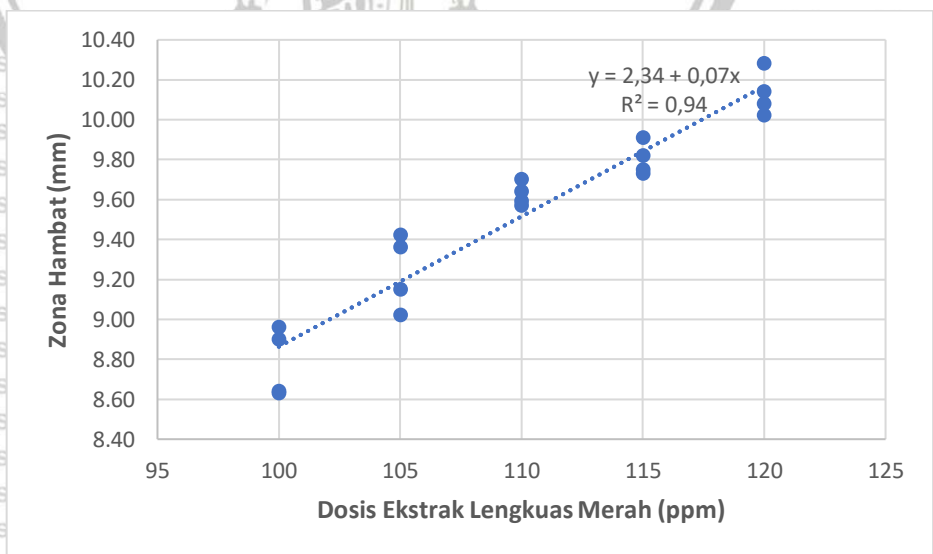
menunjukkan bahwa pemberian ekstrak lengkuas merah berpengaruh nyata terhadap daya hambat bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Selanjutnya perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) yang digunakan untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Hasil uji BNT disajikan pada Tabel 9.

Table 9. Hasil Uji BNT Zona Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophilla*

Rerata Perlakuan	A	B	C	D	E	Notasi
A (8,78)	-	-	-	-	-	A
B (9,24)	0,46*	-	-	-	-	B
C (9,63)	0,85*	0,39*	-	-	-	C
D (9,80)	1,02*	0,56*	0,17 <sup>ns</sup>	-	-	C
E (10,13)	1,35*	0,89*	0,50*	0,33*	-	D

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
(\*) = berbeda nyata

Berdasarkan hasil data pada Tabel 9 dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) berpengaruh terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Nilai tertinggi yang didapatkan yaitu sebesar 10,13 mm yaitu pada perlakuan E dan nilai terendah sebesar 8,78 mm yaitu pada perlakuan A. Pada penelitian ini didapatkan hasil grafik regresi diameter zona bening yang terbentuk dari masing-masing perlakuan yang berbeda yang disajikan dalam Gambar 7.



Gambar 7. Hubungan Dosis dan Diameter Zona Hambat

Berdasarkan gambar diatas didapatkan hasil penelitian ini berupa hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) terhadap diameter zona hambat menunjukan pola linier dengan persamaan  $y = 2,34 + 0,07x$  dan koefisien  $R^2 = 0,94$  (hasil perhitungan uji statistik disajikan pada Lampiran 7). Nilai  $R^2 = 0,94$  merupakan nilai koefisien determinasi yang menunjukan bahwa pengaruh perlakuan terhadap respon sebesar 94%.

Hubungan antara pemberian ekstrak lengkuas merah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* menunjukan bahwa respon meningkat seiring dengan penambahan dosis ekstrak dari dosis 100 ppm, 105 ppm, 110 ppm, 105 ppm, dan 120 ppm. Dari persamaan kurva diatas didapatkan bahwa setiap kenaikan dosis 1 ppm bisa menghasilkan daya hambat sebesar 0,07 mm. Dosis tertinggi yang didapatkan pada penelitian ini yaitu 120 ppm. Hal tersebut disebabkan karena semakin tinggi dosis maka kandungan antibakteri yang berada dalam ekstrak juga akan semakin tinggi sehingga semakin efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Sesuai yang dikatakan oleh Asyarkia *et al.* (2019), bahwa semakin tinggi konsentrasi maka jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan juga semakin besar sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel bakteri. Menurut Hiala *et al.* (2019), pada konsentrasi yang tinggi, fenol dapat berkoagulasi dengan protein seluler dan menyebabkan membran sel menjadi tipis. Ketika membran sel menipis maka fenol dapat dengan mudah berpenetrasi dan merusak isi sel.

Rimpang lengkuas merah memiliki kandungan minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai obat. Berdasarkan hasil uji fitokimia, lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) memiliki kandungan bahan aktif berupa flavonoid, saponin, tanin dan fenol yang terdapat pada lampiran 4. Keempat bahan aktif tersebut dipercaya dapat digunakan sebagai antibakteri. Flavonoid merupakan bahan aktif yang paling banyak ditemukan ditumbuhan hijau dan juga temu-temuan sehingga



flavonoid dapat digunakan sebagai antioksidan dan juga sebagai antimikroba. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Veronita *et al.* (2017), bahwa mekanisme kerja flavonoid terbagi menjadi tiga antara lain yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu flavonoid dapat menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan mampu menghambat motilitas bakteri. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan akibatnya senyawa intraseluler akan keluar (Kristianto *et al.*, 2019). Menurut Priamsari *et al.* (2020), mekanisme kerja dari tanin adalah dengan cara menonaktifkan enzim dan mengganggu transport protein yang terdapat pada lapisan dinding sel bakteri. Tanin mempunyai target polipeptida yang terdapat di dinding sel dan menyebabkan pembentukannya menjadi kurang sempurna, sehingga menyebabkan sel bakteri lisis karena tekanan osmotik maupun fisik. Senyawa fenol mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan cara mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga membran sel lisis sehingga memungkinkan senyawa fenol menembus masuk ke dalam sitoplasma dan menyebabkan bakteri tidak berkembang.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dosis uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* yaitu sebesar 100 ppm. Berdasarkan hasil uji cakram diketahui bahwa ekstrak lengkuas merah berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *Aeromonas hydrophilla* dengan hasil tertinggi pada dosis 120 ppm dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,13 mm.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan yaitu disarankan menggunakan dosis 120 ppm untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Penelitian ini memerlukan waktu pengamatan yang lebih lama kurang lebih 4x24 jam untuk mengetahui apakah ekstrak dapat menghambat saja atau juga bisa membunuh bakteri. Dari hasil yang didapatkan pada penelitian ini, diperlukan penelitian lanjutan menggunakan dosis yang lebih tinggi hingga ditemukan dosis yang optimal dalam menghambat pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophilla*.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, P. M. S., Fatimawali, P. V. Y., Yamlean. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Isolat Sputum Pada Penderita Pneumonia Resisten Antibiotik Seftriakson. *Pharmakon Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Samratulangi*. **8**(1): 11- 21.
- Afrianto, E. dan Liviawaty, E. (1992). Pengendalian hama dan Penyakit Ikan. Kanisius: Jakarta.
- Agustina, E., F. Andiarna, N. Lusiana, R. Purnamasari, M. I. Hadi. (2018). Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Jambu B Air (*syzygiumaqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *BIOTROPIC The Journal of Tropical biology*. **2**(2): 108-118.
- Aidah, Siti Nur. (2020). Ensiklopedia Lengkuas Deskripsi, Filosofi, Manfaat, Budidaya, dan Peluang Bisnisnya. Penerbit KBM Indonesia: Jogjakarta. 79 hlm.
- Aminah, N. Tomayahu, Z. Abidin. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. **4**(2): 226-230.
- Ananingsih, V. K., B. Soedarini. (2017). Ekstraksi Oleoresin Biji Pala. Universitas Katolik Soegijapranata.
- Ariyani, H., M. Nazemi, Hamidah, M. Kurniati. (2018). Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Cytrushystrix* DC) Terhadap Beberapa Bakteri. *JCPS*. **2**(1): 136-141.
- Arwin, M., F. G. Ijong, and R. Tumbol. (2016). Characteristics of *Aeromonas hydrophila* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Science & Management*. **4**(2): 52-55.
- Assidqi, K., W. Tjahjaningsih, S. Sigit. (2012). Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro. *Journal of Marine and Coastal Science*. **1**(2): 113 – 124.
- Asyarkia, N. L., R. Hakim, E. Sulistyowati. (2019). Efek Antibakteri Kombinasi Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Dan Kloramfenikol Pada Bakteri *Escherichia coli* Atau *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. **6**(3) :1-8.



Austin, B., Austin, D.A. (1993). Bacterial Fish Pathogens Disease In Farmed and Wild Fish. *Second Edition* New York. 384 page.

Azrai, M., R. Effendi, B. Zainuddin, A. Nur. (2017). Aplikasi Star untuk Perancangan Percobaan Pertanian. Absolute Media: Yogyakarta. 168 hlm.

Budiyanto, D., S. O. Madyowati, dan N. Lailiyah. (2020). Daya Hambat Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S.) Pada Pertumbuhan Bakteri *Edwardsiella* Dari Benih Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Secara In Vitro.

Calandry, A.W., W. Muslihatin, dan Sutini. (2017). Produksi Benih Sintetik The *Camellia sinensis*. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*. **6**(2): 45-4.

Cipriano, R.C., G. L. Bullock, S. W. Pyle. (1984). *Aeromonas hydrophila* And Motile *Aeromonad* Septicemias of Fish. *US Fish & Wildlife Publications* 134.

Fatimawali, B. J. Kepel, W. Bodhi. (2020). Standarisasi Parameter Spesifik dan Non-Spesifik Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) sebagai Obat Antibakteri. *eBiomedik*. **8**(1): 63-67.

Fitriani, A., Y. Hamdiyati, dan R. Engriyani. (2012). Aktivitas Anti fungi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Secara In Vitro. *Biosfera*. **29**(2): 71-79.

Hernani, T., K. Bunasor, Fitriati. (2010). Formula Sabun Transparan Antijamur Dengan Bahan Aktif Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga* L. Swartz). *Bul Littro*. **21**(2): 192-205.

Hiala, M. A., Aspatia, U., & Riwu, R. R. (2019). Uji Efektivitas Ekstrak Lengkuas (*Alpinia Galanga*) Sebagai Antibakteri *Escherichia Coli*. *Lontar: Journal of Community Health*. **1**(2): 48-52.

Ingggrid, M., Y. Hartanto, J. F. Widjaja. (2018). Karakteristik Antioksidan pada Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.). *Jurnal Rekayasa Hijau*. **3**(2): 283-289.

Kamelia, M., N. Widiani, N. Adistyaningrum. (2018). Analisis Perbedaan Jumlah Bakteri Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Budidaya. *Biospecies*. **11**(2): 76-82.

Kandou, F. E. F. dan D. Pandiangan. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku diantun *capillus-veneris* dan *Asplenium nidus* Terhadap Bakteri Gram Negatif *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. **7**(1): 25-28.



- Kristian, J., S. Zain, S. Nurjanah, A. Widyasanti, S. H. Putri. (2016). Pengaruh Lama Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Mutu Minyak Bunga Melati Putih Menggunakan Metode Ekstraksi Pelarut Menguap (*Solvent Extraction*). *Jurnal Teknotan*. **10**(2): 34-43.
- Kristianto, Y. B., I. Sulistyarini, R. Suharsanti. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Air Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dan Fraksi-Fraksinya Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Media Farmasi Indonesia*. **14**(2): 1546-1550.
- Kurniawati, Evi. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*. **2**(2): 193-199.
- Kurniawati, Nia. (2010). Sehat dan Cantik Alami Berkas Khasiat Bumbu Dapur. *Penerbit Qanita*: Bandung.
- Kusriani, R. H. dan S. A. Zahra. (2015). Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Senyawa Fenolik Total Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah dan Rimpang Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* L.). Prosiding SNaPP: UNISBA. **1**(1): 295-302.
- Lianah. (2019). Biodiversitas Zingiberaceae Mijen Kota Semarang. Deepublish: Yogyakarta. 159 hlm.
- Mahmudah, F.L., dan S. Atun. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Temukunci (*Boesenbergia pandurata*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Penelitian Saintek*. **22**(1): 59-66.
- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari, E. Riani. (2010). Uji Patogenisitas Dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. *Jurnal Riset Akuakultur*. **5**(2): 245-255.
- Mulia, Dini Siswani. (2010). Imunogenisitas Antigen Whole Cell Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Sains Akuatik*. **14**(1):1-25.
- Najib, Ahmad. (2018). Ekstraksi Senyawa Bahan Alam. Deepublish. 68 hlm.
- Nasyanka, A. L., J. Naimah, R. Aulia. (2020). Pengantar Fitokimia. Penerbit Qiara Media: Pasuruan. 111 hlm.
- Ngantung, Y.E., H.E. Simbala, H. Rotinsulu. (2019). Uji Aktivitas Ekstrak dan Fraksi Tunikata *Lissoclinum patella* Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. *PHARMACON*. **8**(4): 825-835.



Niah, R., S. Aryzki, A. K. Sari, S. P. Dina. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 4(1): 203-209.

Nugroho, K.M.D., Supartono dan Harjono. (2016). Isolasi Senyawa Bioaktif Batang Pisang Ambon (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Sebagai Bahan Baku Antibakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 5(3): 1-5.

Nurhayati, L. S., N. Yahdiyani, A. Hidayatulloh. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. 1(2): 41-46.

Payadnya, I.P.A.A. dan I.G.A.N.T. Jayantika. (2018). Panduan Penelitian Eksperimen Beserta Analisis Statistik dengan SPSS. Deepublish: Yogyakarta. 175 hlm.

Priamsari, M. R., A. Rokhana. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus Pyogenes* secara In Vitro. *Journal of Pharmacy*. 9(2): 15-20.

Primawati, S.N., H. Jannah. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Bioscientist. Jurnal Ilmiah Biologi*. 7(2): 177-181.

Putri, A. V. A. A., N. Hafida, dan V. Megawati. (2017). Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana bertonii*) pada Konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%, dan 80% Terhadap *Streptococcus mutans* (In Vitro). *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*. 1(1): 9-14.

Rahmaningsih, S., M. Zenuddin, A. Sudianto. (2018). Gambaran Hematokrit Darah Ikan Lele Sangkuriang (*Clariesgariensis*) yang Diberi Pakan Serbuk Daun Majapahit (*Crescentiactijete* L.) Dan Diinfeksi Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Kelautan dan Perikanan Terapan*. 1(2): 63-67.

Rahmaningsih, Sri. (2018). Hama dan Penyakit Ikan. Deepublish: Yogyakarta. 352 hlm.

Rohmah, M.K., D. Z. Fickri, W. Kasifa, K. I. Wahyuni. (2019). Uji Aktivitas Fibrinolisis Ekstrak Alkaloid Total Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia Purpurata* (Vielli) K. Schum) Secara In Vitro. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*. 1(2): 83-95.

Saputra, Suroto Hadi. (2020). Mikroemulsi Ekstrak Bawang Tiwai Sebagai Pembawa Zat Warna, Antioksidan, dan Antimikroba Pangan. Deepublish: Yogyakarta.



- Sari, E.P., Trigunaedi, E. Indrayani. (2017). Pengendalian Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*). *Jurnal Biologi Papua*. **9**(2): 37-42.
- Siregar, A.F., A. Sabdono, D. Pringgenies. (2012). Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*. **1**(2):152-160.
- Soelama, H.J.J., B. J. Kepel, K. V. Siagian. (2015). Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Ekstrak Rumput Laut (*Euclima cottonii*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi (eG)*. **3**(2): 374-379.
- Suciati, A., Wardiyanto dan Sumino. (2012). Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*. *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **1**(1):1-8.
- Sudarno, F.A. Setiorini dan H. Suprpto. (2011). Efektifitas Ekstrak Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*) Sebagai Antibakteri *Edward siellatarda* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **3**(1):103-108.
- Suryadi, I. B. B., K. Aditya, A. Yustiati, Iskandar. (2020). Efek Pemberian Kalium Diformat Terhadap Performa Kesehatan Benih Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*). *Jurnal Akuatika Indonesia*. **5**(2): 94-105.
- Sutiani, L., Y. Bachtiar, A. Saleh. (2020). Analisis Model Budidaya Ikan Air Tawar Berdominansi Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*) di Desa Sukawening, Bogor, Jawa Barat. *Jurnal Pusat Inovasi Masyarakat*. **2**(2): 207-214.
- Tambun, R., H. P. Limbong, C. Pinem, E. Manurun. (2016). Pengaruh Ukuran Partikel Waktu dan Suhu pada Ekstraksi Fenol dari Lengkuas Merah. *Jurnal Teknik Kimia USU*. **5**(4): 53-56.
- Verdiana, M., I. W. R. Widarta, dan I. D. G. M. Permana. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. **7**(4): 213-222.
- Veronita, F., N. Wijayati, dan S. Mursiti. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Binahong serta Aplikasinya sebagai Hand Sanitizer. *Indonesian Journal of Chemical Science*. **6**(2): 138-144.



Widianingsih, Mastuti. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C Weber) Britton & Rose) Hasil Maserasi Dan Dipekatkan Dengan Kering Angin. *Jurnal Wiyata*. **3**(2): 146-150.

Widyawati, E., N. D. Ayuningtyas, A. P. Pitarisa. (2019). Penentuan Nilai SPF Ekstrak Dan Losio Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. **1**(3): 189-202.

Wijayati, N., C. Astutiningsih, S. Mulyati. (2014). Transformasi  $\alpha$ -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika*. **6**(1): 24-28.

Yuswi, Nusa Claudea Riane. (2017). Ekstraksi Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Dengan Metode Ultrasonic Bath (Kajian Jenis Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **5**(1): 71-79.

Zahro, L. dan R. Agustini. (2013). Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *UNESA Journal of Chemistry*. **2**(3): 120-129.





## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alat Penelitian



Tabung Reaksi



Rak Tabung Reaksi



Erlenmeyer



Pinset



Gelas Ukur



Beaker Glass



## Inkubator



Jarum Ose



## Mikropipet



## Autoclave



## Lemari Pendingin



## Blender



## Timbangan Digital



### Laminary Air Flow (LAF)





Bunsen



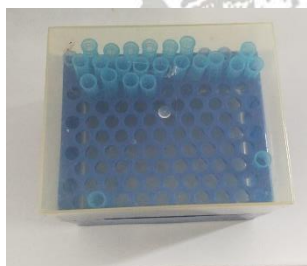
Corong



Sprayer



Rotary Vacuum Evaporator



Blue tip



Spatula



Nampan



Jangka Sorong



Vortex mixer



Hot plate



Gunting



Baskom



Botol film



Cawan Petri



## Lampiran 2. Bahan Penelitian



Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)



*Aeromonas hydrophila*



Media



Alkohol 70%



DMSO 10%



Etanol 96%



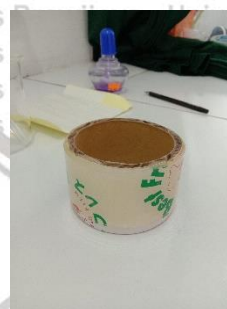
Aquades



Spirtus



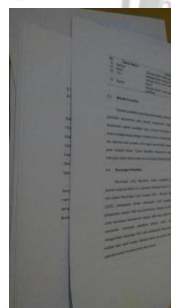
Kertas Saring



Plastik warp



Aluminium foil



Koran/Kertas Bekas



Kertas Cakram



Kertas Label





Kapas



Tisu



### Lampiran 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri *Aeromonas hydrophilla*



**KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN  
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA  
BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU  
LABORATORIUM Uji BBPBAP JEPARA**

Alamat surat: PO Box 1 Jepara, Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418  
Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724  
[www.bbpbapiepara.djpb.kkp.go.id](http://www.bbpbapiepara.djpb.kkp.go.id) ; Email: bbpbapijr@gmail.com

#### HASIL Uji BIOKIMIA

Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri  
Asal : Lab. Mikrobiologi  
Alamat : BBAPAP Jepara  
Metode : Cowan and stell's, Manual for Identification of medical bacteria  
Hasil :

Uji Bio Kimia	Isolat
	<i>Aeromonas hydrophilla</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H <sub>2</sub> S	—
Indol	+
Motil	+
OF medium	Fermentatif
VP	+
MR	—
Gelatin	+
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	+

Lab. Mikrobiologi BBPBAP Jepara

Penyelia

*Sri Murti Astuti, SP.*



## Lampiran 4. Hasil Uji Fitokimia Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
**DINAS KESEHATAN**  
**UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA**  
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu  
**KOTA BATU**

65313

Nomor : 074 / 038 / 102.7-D / 2021  
 Sifat : Biasa  
 Perihal : **Surat Keterangan Analisa Kualitatif**

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama	NIM	Instansi
Desy Amalia Hidayati	175080507111018	Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang
Rendy Dwi Pangestu	175080501111015	
Eka Laila Dindayani	175080507111001	




2. Identitas Sampel




Nama sampel : Lengkuas Merah  
 Nama latin : *Alpinia purpurata*  
 Bagian sampel : Rimpang  
 Bentuk sampel : Ekstrak  
 Pelarut : Etanol 96%  
 Tanggal penerimaan : 1 Februari 2021  
 Tanggal pemeriksaan : 1 Februari 2021

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	(-) Negatif
	Dragendrof	Endapan Jingga	(-) Negatif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	(-) Negatif
2.	Flavonoid	Jingga, Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	(+) Positif
3.	Tanin / Fenol	Cokelat Kehitaman, Biru Kehitaman	(+) Positif
4.	Saponin	Busa Permanen	(+) Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Alkaloid		
	Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Ekstrak Lengkuas Merah			

Nama Sampel	Flavonoid	Tanin / Fenol	Saponin
Ekstrak Lengkuas Merah			



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
**DINAS KESEHATAN**  
**UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA**  
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu  
**KOTA BATU**

65313

5. Pustaka

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.





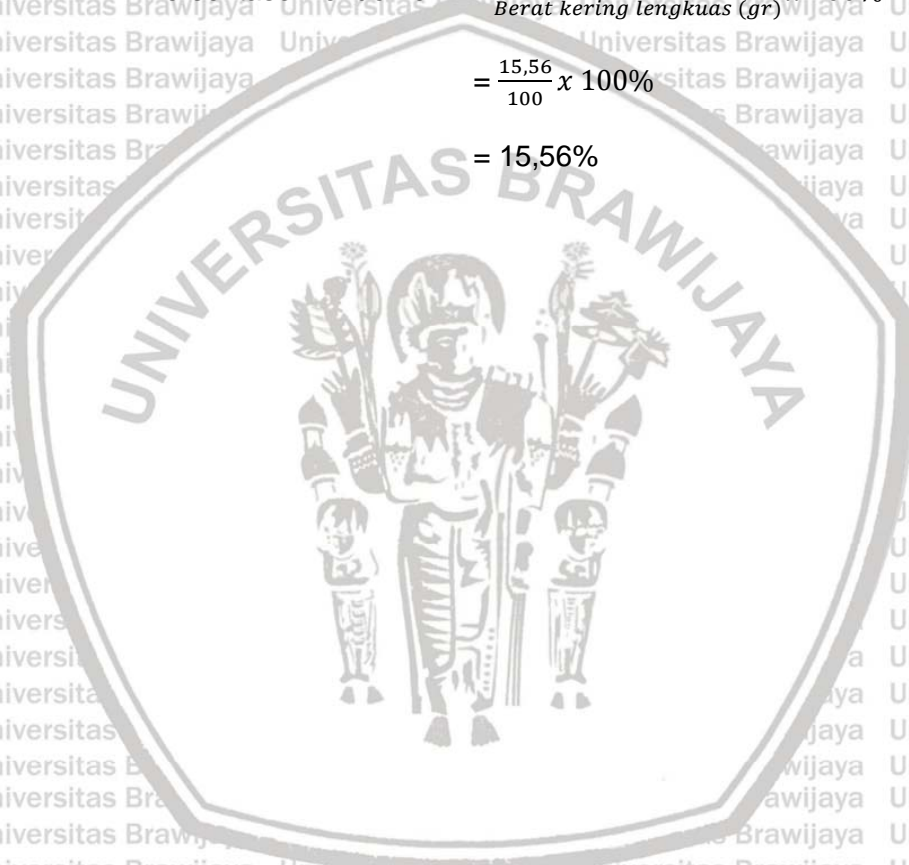
## Lampiran 5. Hasil Perhitungan Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)

### - Perhitungan Persentase Berat Kering

$$\begin{aligned}\text{Persentase Berat Kering} &= \frac{\text{Berat kering lengkuas (kg)}}{\text{Berat basah lengkuas (kg)}} \times 100\% \\ &= \frac{1,5}{3} \times 100\% \\ &= 50\%\end{aligned}$$

### - Perhitungan Persentase Rendemen

$$\begin{aligned}\text{Persentase Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak (gr)}}{\text{Berat kering lengkuas (gr)}} \times 100\% \\ &= \frac{15,56}{100} \times 100\% \\ &= 15,56\%\end{aligned}$$



## Lampiran 6. Pembuatan Larutan Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)

### Perhitungan Larutan Stok Ekstrak

$$\begin{aligned}\text{Larutan Ekstrak 1000 ppm} &= \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \\ &= \frac{10 \text{ mg (Ekstrak)}}{10 \text{ mg (1 ml DMSO 10\% + 9 ml Aquades)}}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Pembuatan DMSO 10\%} &= \frac{10}{100} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Akuades} &= 10 \text{ ml} - 1 \text{ ml} \\ &= 9 \text{ ml}\end{aligned}$$

### Pengenceran Larutan

Pengenceran larutan dengan dosis 1000 ppm ke larutan 100 ppm, 105 ppm, 110 ppm, 115 ppm, dan 120 ppm.

#### a. 100 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 2 \cdot 100$$

$$V_1 = 0,2 \text{ ml}$$

Jadi, 0,2 ml larutan stok 1000 ppm + 1,8 ml larutan pengencer

#### b. 105 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 2 \cdot 105$$

$$V_1 = 0,21 \text{ ml}$$

Jadi, 0,21 ml larutan stok 1000 ppm + 1,79 ml larutan pengencer

#### c. 110 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 2 \cdot 110$$

$$V_1 = 0,22 \text{ ml}$$



Jadi, 0,22 ml larutan stok 1000 ppm + 1,78 ml larutan pengencer

d. 115 ppm

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 1000 = 2 \cdot 115$$

$$V1 = 0,23 \text{ ml}$$

Jadi, 0,23 ml larutan stok 1000 ppm + 1,77 ml larutan pengencer

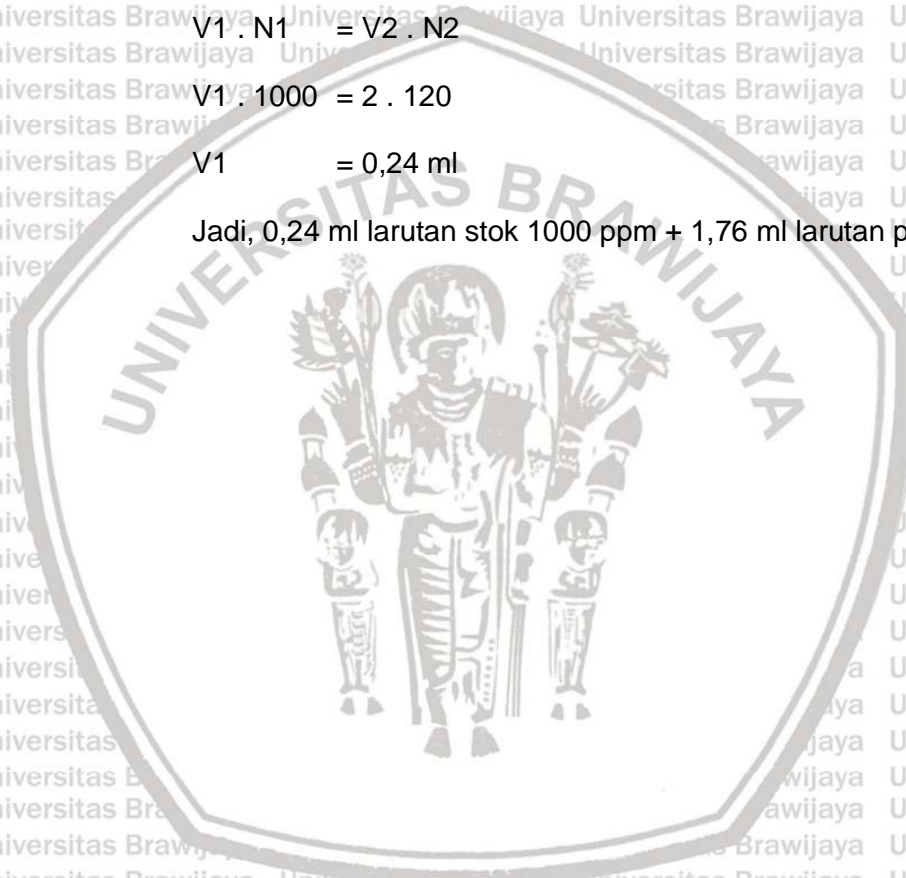
e. 120 ppm

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 1000 = 2 \cdot 120$$

$$V1 = 0,24 \text{ ml}$$

Jadi, 0,24 ml larutan stok 1000 ppm + 1,76 ml larutan pengencer



## Lampiran 7. Perhitungan Data Hasil Penelitian

perlakuan	ulangan				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
A (100 ppm)	8,64	8,96	8,63	8,9	35,13	8,78
B (105 ppm)	9,02	9,15	9,42	9,36	36,95	9,24
C (110 ppm)	9,57	9,64	9,59	9,7	38,50	9,63
D (115 ppm)	9,73	9,82	9,75	9,91	39,21	9,80
E (120 ppm)	10,08	10,14	10,28	10,02	40,52	10,13
<b>Total</b>					190,31	

### • Perhitungan Sidik Ragam

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\
 &= \frac{190,31^2}{20} \\
 &= 1810,89 \\
 \text{JK Total} &= (A1^2 + A2^2 + \dots + E4^2) - FK \\
 &= (8,64^2 + 8,96^2 + \dots + 10,02^2) - FK \\
 &= 1815,50 - 1810,89 \\
 &= 4,61 \\
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum (\sum x_i)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2 + TE^2}{4} - FK \\
 &= \frac{35,13^2 + 36,95^2 + 38,50^2 + 39,21^2 + 40,52^2}{4} - 1810,89 \\
 &= 1815,24 - 1810,89 \\
 &= 4,35 \\
 \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 4,61 - 4,35 \\
 &= 0,26
 \end{aligned}$$



$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = (n \times r) - 1$$

$$= (5 \times 4) - 1$$

$$= 19$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Perlakuan} = n - 1$$

$$= 5 - 1$$

$$= 4$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Acak} = n \times (r - 1)$$

$$= 5 \times (4 - 1)$$

$$= 15$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}$$

$$= \frac{4,35}{4}$$

$$= 1,09$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{JK \text{ acak}}{db \text{ acak}}$$

$$= \frac{0,26}{15}$$

$$= 0,02$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{1,09}{0,02}$$

$$= 62,85$$

#### • Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%
Perlakuan	4	4,35	1,09	62,85*	3,06
Acak	15	0,26	0,02		
Total	19	4,61			

Keterangan: (\*) Berbeda Nyata

Karena nilai F Hitung lebih besar dari pada nilai F 5%, maka dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

• **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil**

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,02}{4}}$$

$$= 0,09$$

$$- \text{BNT } 5\% = T \text{ Tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED}$$

$$= 2,131 \times 0,09$$

$$= 0,20$$

• **Tabel Uji BNT**

Rerata	A	B	C	D	E	Notasi
Perlakuan	8,78	9,24	9,63	9,80	10,13	
A (8,78)	-	-	-	-	-	a
B (9,24)	0,46*	-	-	-	-	b
C (9,63)	0,85*	0,39*	-	-	-	c
D (9,80)	1,02*	0,56*	0,17 <sup>ns</sup>	-	-	c
E (10,13)	1,35*	0,89*	0,50*	0,33*	-	D

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(\*) = berbeda nyata

Berdasarkan data diatas hasil perhitungan uji Berbeda Nyata Terkecil (BNT) diketahui bahwa hasil terbaik yaitu pada perlakuan E yang kemudian diikuti oleh perlakuan D, C, B, dan A.



**Tabel Polynomial Orthogonal**

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A	35,13	-2	2	-1	1
B	36,95	-1	-1	2	-4
C	38,50	0	-2	0	6
D	39,21	1	-1	-2	-4
E	40,52	2	2	1	1
Q= $\sum C_i \cdot T_i$		13,04	-1,86	0,87	2,01
Kr= $(\sum C_i^2) \cdot r$		40	56	40	280
JK=Q <sup>2</sup> /Kr		4,25	0,06	0,02	0,01

JK Regresi Total = JK Linier + JK Kuadratik + JK Kubik + JK Kuartik

$$= 4,25 + 0,06 + 0,02 + 0,01$$

$$= 4,35$$

#### Analisi Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hitung	F 5%
Perlakuan	4	4,35			3,06
Linier	1	4,25	4,25	245,89 *	
Kuadratik	1	0,06	0,06	3,57 *	
Kubik	1	0,02	0,02	1,09 <sup>ns</sup>	
Kuartik	1	0,01	0,01	0,83 <sup>ns</sup>	
Acak	15	0,26	0,02		
Total	19	4,61			

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

\* = berbeda nyata

Berdasarkan data diatas hasil regresi linier dan kuadratik berbeda nyata,

maka selanjutnya dihitung R<sup>2</sup> pada masing-masing regresi tersebut.

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{4,25}{4,25 + 0,26}$$

$$= 0,94$$

$$R^2 \text{ Kuadrat} = \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,06}{0,06 + 0,26}$$

$$= 0,19$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,02}{0,02 + 0,26}$$

$$= 0,07$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,01}{0,01 + 0,026}$$

$$= 0,05$$

Berdasarkan hasil perhitungan  $R^2$  diatas menunjukan bahwa nilai  $R^2$  Linier lebih besar daripada  $R^2$  kuadrat, kubik, dan Kuartik. Dari hasil tersebut menunjukan bahwa kurva yang digunakan yaitu kurva linier yang kemudian dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan yaitu sebagai sumbu x dan nilai rata-rata skoring sebagai sumbu y sehingga didapatkan garis linier pada grafik.

**Tabel Sumbu X dan Y**

Perlakuan	X	Y	XY	X <sup>2</sup>
A1	100	8,64	864,00	10000
A2	100	8,96	896,00	10000
A3	100	8,63	863,00	10000
A4	100	8,90	890,00	10000
B1	105	9,02	947,10	11025
B2	105	9,15	960,75	11025
B3	105	9,42	989,10	11025
B4	105	9,36	982,80	11025
C1	110	9,57	1052,70	12100
C2	110	9,64	1060,40	12100
C3	110	9,59	1054,90	12100
C4	110	9,70	1067,00	12100
D1	115	9,73	1118,95	13225
D2	115	9,82	1129,30	13225



Perlakuan	X	Y	XY	X <sup>2</sup>
D3	115	9,75	1121,25	13225
D4	115	9,91	1139,65	13225
E1	120	10,08	1209,60	14400
E2	120	10,14	1216,80	14400
E3	120	10,28	1233,60	14400
E4	120	10,02	1202,40	14400
Total	2200	190,31	20999,30	243000

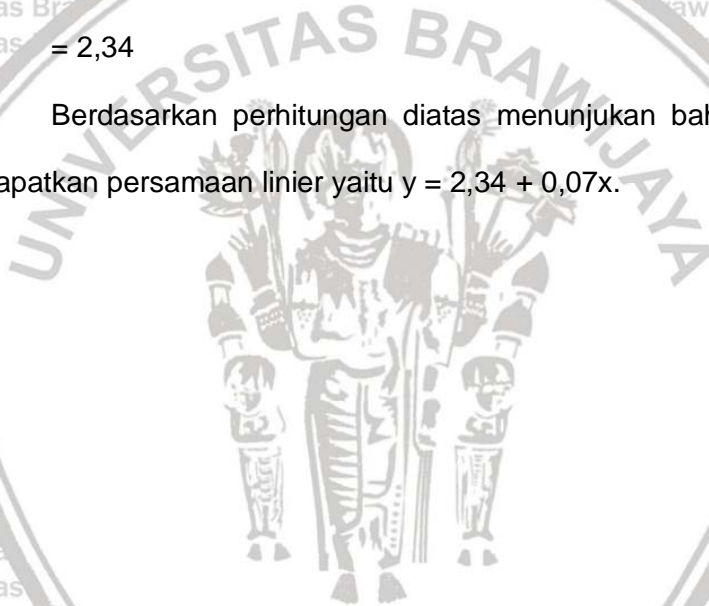
$$B_1 = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$= 0,07$$

$$B_0 = \frac{(\sum y)(\sum x^2) - (\sum x)(\sum xy)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$= 2,34$$

Berdasarkan perhitungan diatas menunjukan bahwa b0 dan b1, maka didapatkan persamaan linier yaitu  $y = 2,34 + 0,07x$ .



## Lampiran 8. Kandungan Media

No	Media	Kandungan
1.	TSA ( <i>Tryptic Soy Agar</i> )	Agar Tryptone Soytone Sodium chloride
2.	TSB ( <i>Tryptitone Soy Broth</i> )	Casein Peptone soymeal Peptone Broth
3.	MHA ( <i>Mueller Hinton Agar</i> )	Beef dehydrate infusion Casein hydrolysate Starch Agar

